

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



DOENÇAS HISTIOCÍTICAS EM CÃES- ESTUDO DE CASOS

SARA CAIRES JACINTO

ORIENTADORA:  
Doutora Maria da Conceição da Cunha  
e Vasconcelos Peleteiro

TUTORA:  
Doutora Maria Inês Santos Pinho

2021

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



DOENÇAS HISTIOCÍTICAS EM CÃES- ESTUDO DE CASOS

SARA CAIRES JACINTO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor José Manuel Antunes Ferreira da  
Silva

ORIENTADORA:

Doutora Maria da Conceição da Cunha e  
Vasconcelos Peleteiro

VOGAIS:

Doutora Maria da Conceição da Cunha e  
Vasconcelos Peleteiro

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix  
Lourenço

TUTORA:

Dra. Maria Inês Santos Pinho

2021

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Sara Caires Jacinto

Título da Tese ou Dissertação: Doenças histiocíticas em cães- Estudo de casos

Ano de conclusão: 2021

Designação do curso de  
Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra:

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Clínica  | <input type="checkbox"/> Produção Animal e Segurança Alimentar |
| <input type="checkbox"/> Morfologia e Função | <input type="checkbox"/> Sanidade Animal                       |

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- ☒ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- ☐ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☐ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações:

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 12 de fevereiro de 2021

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, quero agradecer à Doutora Maria Conceição Peleteiro por ter aceitado ser minha orientadora apesar da mudança de tema inesperada. Agradecer pela sua amabilidade, conhecimento e, acima de tudo, pelo seu tempo. A sua ajuda foi imprescindível para a realização desta dissertação. O meu muito obrigada!

À minha tutora, a Doutora Maria Inês Santos Pinho, que me apoiou durante o meu estágio e, mesmo após esse tempo, teve sempre disponível para me ajudar a recolher toda a informação necessária para o enriquecimento da presente dissertação. À Doutora Joana Alegrete, por me ter permitido estagiar no Hospital Veterinário de Aveiro (HVA) onde pude evoluir e dar os primeiros grandes passos na Medicina Veterinária. Obrigada a todos os médicos, enfermeiros e auxiliares do HVA pela aprendizagem, paciência, confiança, carinho e boa disposição. Não podia ter tido melhor equipa para me orientar e ajudar a crescer.

Ao Laboratório Inno, em especial à Doutora Paula Brilhante Simões, pela sua colaboração na realização da dissertação.

Um obrigado muito especial àqueles que me acompanharam neste percurso e reconhecem como é difícil chegar aqui. Obrigada por melhorarem os dias longe de casa e ajudarem a sobreviver às épocas de exames. Vocês foram o melhor desta faculdade e não teria sido o mesmo sem cada um de vocês!

À Catarina Sequeira, Margarida Venâncio e Manuela Valente, por terem sido o meu primeiro apoio e sorriso na faculdade.

À Rita Rodrigues, Frutas, Rita Silva, Rita Vinha, Pedro e Rita Diogo, por me terem feito mudar de turma e animarem todos os dias, dentro e fora da faculdade. Com vocês ninguém dorme.

À Mónica Martins pela amizade, apoio e carinho ao longo destes anos.

À Daniela Coimbra, Inês Dutra e à minha querida madrinha Maria Manuel, que me guiaram durante as épocas de exames com palavras de incentivo e coragem.

À Picas e à Noné pelas pessoas incríveis que são, por terem partilhado comigo a vontade de vencer e fazerem parte dos momentos mais felizes que levo da faculdade.

Ao Henrique, por uma amizade que não cobra, pelas vezes que chorámos a rir, por todas as memórias e pelo carinho.

E sem dúvida, à Raquel Veloso, que foi amiga e companheira de todas as horas. Desde o primeiro momento que me conheceu o seu papel foi animar-me e ajudar-me nos tempos mais difíceis. Para ti um obrigada não chega.

À equipa de voleibol feminino da FMV pelos momentos de descontração e pelo espírito de equipa que vivemos juntas nas derrotas e vitórias! Obrigada por me fazerem sentir parte de algo maior e por estarem sempre do meu lado, dentro e fora do campo.

Aos meus avós, um obrigada do fundo do coração por todo o carinho e palavras de força e coragem.

Obrigada Mãe e Pai, por apoiarem o desejo de me tornar Médica Veterinária e por acreditarem em mim e nas minhas capacidades. Obrigada por serem a minha maior inspiração, um exemplo de determinação, trabalho e perseverança. Obrigada pelos três irmãos maravilhosos que se tornaram nos meus melhores amigos e com quem pude sempre contar e ter neles um exemplo a seguir.

Ao Nelson Farinha, o agradecimento mais especial, por todas as lágrimas que me limpou nestes anos e todo o amor que me ajudou a superar os dias longe de casa. Sem ele, provavelmente estes anos teriam sido muito mais duros e esta conquista não seria tão doce. Obrigada por me lembrares que este era o caminho que devia seguir quando duvidei de mim mesma e das minhas capacidades.

Obrigada a todos por me acompanharem nesta viagem!

## Resumo

### DOENÇAS HISTIOCÍTICAS EM CÃES- ESTUDO DE CASOS

As doenças histiocíticas caninas abrangem um amplo espectro de processos patológicos caracterizados por diversos comportamentos biológicos, podendo manifestar-se desde lesões reacionais não neoplásicas (histiocitose cutânea e sistêmica) até neoplasias benignas (histiocitoma cutâneo) e tumores malignos (sarcoma histiocítico localizado, disseminado e hemofagocítico). O termo histiócito é genericamente utilizado para descrever a linhagem de células dendríticas e macrófagos, desempenhando um papel fundamental no funcionamento do sistema imunitário. A etiologia e patogênese destas doenças ainda é desconhecida e, muitas vezes, podem ser difíceis diferenciar de inflamações granulomatosas ou de outros tumores de células redondas, como o linfoma.

Os objetivos deste estudo consistiram na caracterização de uma amostra de canídeos ( $n=7$ ) com doença histiocítica diagnosticada relativamente à raça, idade, sexo, sintomas/sinais clínicos, tipo de doença histiocítica, decisão terapêutica e prognóstico, e por fim comparar os resultados obtidos com os dados de outros autores. Desta forma, as doenças histiocíticas que se registaram na amostra em estudo foram o histiocitoma cutâneo ( $n=4$ ) e o sarcoma histiocítico ( $n=3$ ). A idade média ao diagnóstico no histiocitoma cutâneo foi 3,75 anos e no sarcoma histiocítico 7,6, não aparecendo haver suscetibilidade ligada ao sexo. As raças que se encontram indicadas na bibliografia como predispostas estiveram presentes neste estudo, entre elas, o Boxer e o Cocker Spaniel no histiocitoma cutâneo, e o Labrador Retriever e o Rottweiler no sarcoma histiocítico.

No histiocitoma cutâneo o único sinal clínico observado foi a presença de nódulos cutâneos únicos, enquanto que, no sarcoma histiocítico, os sinais clínicos mais frequentes foram anorexia e desconforto abdominal. O prognóstico para o sarcoma histiocítico parece estar intimamente ligado com a presença de alguns parâmetros clínicos como anemia, trombocitopénia, hipoalbuminémia e envolvimento esplénico, sendo tanto melhor quanto menos destes parâmetros apresentar. Pelo contrário, o prognóstico do histiocitoma cutâneo é bastante favorável, ocorrendo regressão espontânea ao fim de aproximadamente dois meses após o seu aparecimento.

**Palavras-Chave:** doença histiocítica; cão; histiócito; histiocitoma; sarcoma histiocítico

## **Abstract**

### **HISTIOCYTIC DISEASES IN DOGS- STUDY CASES**

The canine histiocytic diseases include a wide spectrum of pathologic processes characterized by different biologic behaviours, being able to express themselves as non-neoplastic reactive lesions (cutaneous and systemic histiocytosis), as benign neoplasms (cutaneous histiocytoma) and as malignant tumors (localized, disseminated and hemophagocytic sarcoma). The term histiocyte has been used to generally describe cells of dendritic or macrophage lineage, playing a fundamental role in the function of the immune system. The etiology and pathogenesis of these diseases are still unknown, and can be often difficult to differentiate them from granulomatous inflammations or other round cell tumors, such as lymphoma.

The goals of this study were to characterize a sample group of dogs (n=7) with confirmed histiocytic diseases in terms of breed, sex, clinical signs/symptoms, characterization of the disease itself, therapeutic decision and prognosis and, finally, to compare the results obtained with previous reports regarding the same problem. The histiocytic diseases that have been diagnosed in the group sample were cutaneous histiocytoma (n=4) and histiocytic sarcoma (n=3). The average age was 3.75 years at the diagnosis in cutaneous histiocytoma and 7.6 years old in histiocytic sarcoma, without gender susceptibility. The predisposed breeds that are indicated in the bibliography, including Boxer and Cocker Spaniel in cutaneous histiocytoma and Labrador Retriever and Rottweiler in histiocytic sarcoma, were present in this study. In cutaneous histiocytoma, the presence of single cutaneous nodules were the only observed clinical sign, while in histiocytic sarcoma the most frequent clinical signs were anorexia and abdominal discomfort. The prognosis for histiocytic sarcoma seems to be closely related with the manifestation of some clinical parameters such as anemia, thrombocytopenia, hypoalbuminemia and splenic involvement, improving when least negative parameters are present.

Contrarily, the prognosis of cutaneous histiocytoma is quite favourable, with spontaneous regression occurring approximately two months after its onset.

**Key words:** histiocytic disease; dog; histiocyte; histiocytoma; histiocytic sarcoma

## Índice

Lista de Abreviaturas .....	x
1. Relatório de Estágio.....	1
2. Revisão Bibliográfica de Doenças Histiocíticas Caninas .....	2
2.1. Introdução.....	2
2.1.1. Histiócitos e Diferenciação Histiocítica.....	3
2.1.2. Imunofenotipagem .....	5
3. Doenças Histiocíticas Caninas.....	7
3.1. Histiocitoma Cutâneo .....	7
3.1.1. Diagnóstico .....	9
3.1.2. Tratamento e Prognóstico .....	11
3.2. Histiocitose Cutânea de Células de Langerhans .....	11
3.3. Histiocitoses Reativas.....	12
3.3.1. Histiocitose Cutânea .....	13
3.3.1.1. Diagnóstico .....	14
3.3.1.2. Tratamento e Prognóstico .....	15
3.3.2. Histiocitose Sistémica .....	16
3.3.2.1. Diagnóstico .....	17
3.3.2.2. Tratamento e Prognóstico .....	18
3.4. Sarcoma Histiocítico .....	19
3.4.1. Diagnóstico .....	20
3.4.2. Tratamento e prognóstico .....	23
3.5. Sarcoma Histiocítico Articular .....	26
3.6. Sarcoma Histiocítico do Sistema Nervoso Central .....	28
3.7. Sarcoma Histiocítico Hemofagocítico .....	29
3.7.1. Diagnóstico .....	30
3.7.2. Tratamento e Prognóstico .....	32
4. Doenças Histiocíticas Caninas: Estudo de Casos.....	32
4.1. Objetivos do Estudo.....	32
4.2. Materiais e Métodos.....	32
4.2.1. Seleção de casos .....	32
4.2.2. Critérios de inclusão na amostra.....	32
4.2.3. Critérios de exclusão na amostra.....	33
4.2.4. Revisão dos registos clínicos.....	33
4.2.5. Epidemiologia e história clínica.....	33
4.2.6. Apresentação de resultados e análise estatística .....	33
4.3. Resultados .....	33



4.3.1.	Caracterização fenotípica da amostra populacional.....	33
4.3.2.	Sinais clínicos e exame físico .....	34
4.3.3.	Exames complementares .....	36
4.3.4.	Tratamento .....	43
4.3.5.	Prognóstico .....	46
4.4.	Discussão .....	47
4.5.	Limitações.....	50
4.6.	Conclusão.....	51
	Bibliografia.....	52

## Lista de Figuras

<b>Figura 1-</b> Diferenciação de macrófagos e células dendríticas- Citocinas e fatores de crescimento.....	4
<b>Figura 2-</b> Histiocitoma cutâneo canino.....	9
<b>Figura 3-</b> Citologia do histiocitoma cutâneos.....	10
<b>Figura 4-</b> Histiocitose cutânea de células de Langerhans.....	12
<b>Figura 5-</b> Histiocitose cutânea ao microscópio óptico.....	14
<b>Figura 6-</b> Histiocitose canina.....	15
<b>Figura 7-</b> Histiocitose sistêmica num cão Boieiro de Berna.....	17
<b>Figura 8-</b> Sarcoma histiocítico disseminado num Rotweiller de 12 anos de idade.....	22
<b>Figura 9-</b> Metástases de sarcoma histiocítico canino.....	23
<b>Figura 10-</b> Observação ao microscópio óptico de sarcoma histiocítico canino pulmonar.....	23
<b>Figura 11-</b> Sarcoma histiocítico articular canino.....	27
<b>Figura 12-</b> Observação microscópica de sarcoma histiocítico articular canino.....	27
<b>Figura 13-</b> Metástases no SNC de sarcoma histiocítico canino.....	29
<b>Figura 14-</b> Comparação da apresentação das lesões esplênicas no sarcoma histiocítico disseminado e no sarcoma histiocítico hemofagocítico.....	31
<b>Figura 15-</b> Evolução da ferida do cotovelo esquerdo do cão 2.....	39
<b>Figura 16-</b> Imagem de TC de corte transversal da cavidade abdominal pós-contraste, com observação do fígado (A) e do estômago (B).....	42
<b>Figura 17-</b> Imagem de TC de corte transversal da cavidade abdominal pós-contraste.....	42
<b>Figura 18-</b> Imagem de TC de corte transversal (A) e corte coronal (B) da cavidade abdominal pós-contraste.....	43

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1-</b> Marcadores de doenças histiocíticas caninas.....	6
<b>Tabela 2-</b> Caracterização da amostra populacional de cães com doença histiocítica.....	34
<b>Tabela 3-</b> Frequências relativas dos sinais clínicos observados na amostra em estudo.....	35

<b>Tabela 4-</b> Sinais clínicos observados na consulta dos sete cães da amostra em estudo.....	35
<b>Tabela 5-</b> Marcadores imunohistoquímicos utilizados no diagnóstico de sarcoma histiocítico nos cães 1 e 3.....	40
<b>Tabela 6-</b> Protocolo de quimioterapia lomustina-vimblastina realizado no cão 1....	45
<b>Tabela 7-</b> Tratamento e parâmetros de prognóstico negativo registados nos cães da amostra com sarcoma histiocítico.....	46

## Lista de Gráficos

<b>Gráfico 1-</b> Frequências relativas dos sinais clínicos que motivaram a ida à consulta em cães com histiocitoma cutâneo e sarcoma histiocítico.....	35
<b>Gráfico 2-</b> Características morfológicas observadas nas consultas dos quatro casos de histiocitomas cutâneos.....	36
<b>Gráfico 3-</b> Frequências relativas das alterações observadas no dia da primeira consulta no hemograma (A) e nas análises bioquímicas (B) em cães diagnosticados com sarcoma histiocítico.....	37

## Lista de Abreviaturas

AHIM	anemia hemolítica imunomediada
ALT	alanina aminotransferase
CCNU	1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea
CCR	quimiocinas
CD	<i>cluster of cell differentiation</i> (conjunto de antígenos diferenciadores de tipos de células)
BID	<i>bis in die</i> (duas vezes ao dia)
FAS	fosfatase alcalina sérica
FFEP	fixado em formol a 10% e incluído em parafina
FLT3	tirosina quinase 3 relacionado com a proliferação de células sanguíneas
GM-CSF	fator de crescimento de colônias granulócitas e macrófagos
HCCL	histiocitose cutânea de células de Langerhans
IFN	interferão
IL-4	interleucina 4
LCR	líquido cefalorraquidiano
M-CSF	fator de crescimento estimulante de colônias de macrófagos
MHC	complexo principal de histocompatibilidade
PAAF	punção aspirativa com agulha fina
TC	Tomografia Computorizada
TGF- $\beta$ 1	fator de crescimento e transformação $\beta$ 1
TMS	tempo médio de sobrevivência
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral $\alpha$
SCF	fator de células estaminais
SH	sarcoma histiocítico
SHA	sarcoma histiocítico articular
SHD	sarcoma histiocítico disseminado
SHH	sarcoma histiocítico hemofagocítico
SHL	sarcoma histiocítico localizado
SNC	sistema nervoso central

## **1. Relatório de Estágio**

A realização do estágio curricular insere-se no plano de estudos do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa) e tem como objetivos principais a aprendizagem, treino e aprofundamento dos conhecimentos em diversas áreas da medicina veterinária.

O estágio curricular decorreu entre 16 de setembro de 2019 a 21 de fevereiro de 2020, sob a orientação da Doutora Maria Inês Pinho dos Santos, no Hospital Veterinário de Aveiro (HVA). Este hospital visa prestar variados cuidados de saúde veterinários a animais de companhia e exóticos, englobando consultas, cirurgias, internamento, imagiologia e fisioterapia.

As atividades foram desenvolvidas em turnos de 8 e 10 horas, em horários diurnos durante a semana, feriados e fins de semanas. Durante este período foi feito o acompanhamento e colaboração nas áreas da medicina interna (internamento e consultas) (511 horas), imagiologia (35 horas) e cirurgia (360 horas), finalizando o estágio com um total de 906 horas.

Para além das rotações nos vários serviços, e tendo em conta o interesse pessoal pela área de cirurgia e clínica, foi possível acompanhar os exames radiográficos, análises clínicas, preparação e monitorização anestésica e cirurgia dos animais. Foi ainda possível, participar nas consultas de especialidade de oncologia com a Doutora Márcia João, oftalmologia com a Doutora Diana Lima, dermatologia com a Doutora Joana Pinho e cuidados intensivos com a Doutora Inês Santos, bem como acompanhar a realização e avaliação de imagens de Tomografia Computorizada (TC) com a Doutora Ana Rita Gomes e o Doutor Rafael Guerra.

Para além disso, foram prestados cuidados na área das doenças infetocontagiosas, com as devidas medidas de prevenção na manipulação dos animais internados nessa ala do hospital.

Durante o período de estágio, foram ainda recolhidos dados de sete casos clínicos de cães com doença histiocítica, como parte integrante do trabalho indispensável à realização da presente dissertação.

## 2. Revisão Bibliográfica de Doenças Histiocíticas Caninas

### 2.1. Introdução

O espectro celular abrangido pelo termo *histiócito* tem evoluído ao longo dos tempos. Atualmente, o termo histiócito, é genericamente utilizado para descrever a linhagem de células dendríticas e macrófagos, que desempenham um papel fundamental no funcionamento do sistema imunitário (Moore 2014).

As células da linhagem de monocitária/macrofágica têm como principal função a fagocitose de células apoptóticas, partículas inertes e agentes patogênicos no organismo (Abla et al. 2016). Uma vez libertados da medula óssea, os monócitos circulam através da circulação sanguínea para os tecidos alvo, onde se tornam macrófagos maduros. Estes macrófagos com origem histiocitária localizam-se em vários tecidos do organismo, incluindo pele, baço, pulmão (macrófagos alveolares) e fígado (células de Kupffer) (Wobeser 2009).

Por outro lado, as células dendríticas representam uma família heterogênea de células com funções especializadas, entre elas a apresentação de antígenos e indução da resposta primária das células T (Summerfield et al. 2015). Estas células podem ainda ser subdivididas em células dendríticas epidérmicas, localizadas no epitélio da pele e dos tratos respiratório, reprodutor e gastrointestinal, e células dendríticas intersticiais, localizadas na região perivascular da maioria dos órgãos, com exceção do sistema nervoso central, no qual a sua localização é restrita às leptomeninges e ao plexo coróide (Vail et al. 2020). As células dendríticas mais bem definidas no cão encontram-se na pele sob a forma de células dendríticas epidérmicas (células de Langerhans) e células dendríticas dérmicas (células dendríticas intersticiais) (Moore 2014; Vail et al. 2020).

As células dendríticas que se localizam nos domínios de células T em órgãos linfóides (baço, linfonodos, placas de Peyer, timo e tonsilas) são denominadas células dendríticas interdigitantes (Thomas e Lipsky 1996; Vail et al. 2020). Nos linfonodos, estas células são compostas por células dendríticas residentes e migratórias (Vail et al. 2020). As células dendríticas migratórias consistem em células de Langerhans e em células dendríticas intersticiais, que migram dos tecidos para os linfonodos através dos vasos linfáticos (Summerfield et al. 2015; Vail et al. 2020).

Os distúrbios histiocíticos caninos abrangem um amplo espectro de doenças caracterizadas por diversos comportamentos biológicos, podendo manifestar-se desde lesões não neoplásicas reacionais até neoplasias benignas e tumores malignos. Contudo, constata-se que a maior parte das doenças histiocíticas no cão envolve a proliferação da linhagem de células dendríticas (Meuten 2017). Assim, o

histiocitoma canino e a histiocitose cutânea de células de Langerhans têm origem na proliferação de células de Langerhans. Por outro lado, as células dendríticas intersticiais são responsáveis pela maioria dos sarcomas histiocíticos caninos e a histiocitose reativa cutânea e sistêmica ocorre devido à proliferação de células dendríticas intersticiais ativadas (Daleck e Nardi 2016; Meuten 2017). Atualmente, o sarcoma histiocítico hemofagocítico é a única doença histiocítica em cães em que foi demonstrada a origem a partir de macrófagos (Moore 2014).

O diagnóstico e tratamento destas doenças são um desafio na prática da clínica veterinária. As principais causas para as dificuldades encontradas no seu diagnóstico devem-se à falta de marcadores imunohistoquímicos que consigam determinar com certeza a origem celular da doença, e ainda, o seu comportamento clínico altamente variável e semelhante a outros distúrbios (Wobeser 2009).

Desta forma, a pesquisa veterinária tem concentrado os seus esforços na descoberta de marcadores imunohistoquímicos capazes de identificar a origem celular das alterações histiocíticas. A técnica de imunohistoquímica desempenha um importante papel neste aspeto, visto que, permite ao patologista fazer um diagnóstico definitivo e orienta o clínico veterinário em relação ao prognóstico da doença e o melhor tratamento a aplicar (Wobeser 2009).

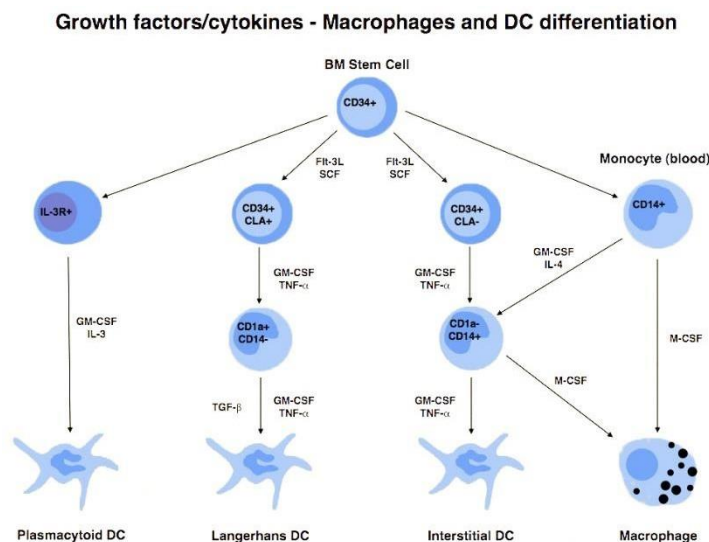
### **2.1.1. Histiócitos e Diferenciação Histiocítica**

Os histiócitos diferenciam-se a partir de percursores de células estaminais CD34+ em macrófagos e nas várias células da linhagem de células dendríticas (Moore 2014; Meuten 2017). A ação de citocinas e fatores de crescimento como tirosina quinase 3 relacionada com a proliferação de células sanguíneas (FLT3), fator de crescimento de colônias granulocítica e macrófaga (GM-CSF), fator de células estaminais (SCF), fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina 4 (IL-4) e fator de crescimento de transformação  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) é responsável pelo desenvolvimento das células dendríticas (UCDAVIS Veterinary Medicine n.d.). Por outro lado, a proliferação e diferenciação dos macrófagos a partir dos percursores CD34+ é influenciada pelo GM-CSF e pelo fator de crescimento estimulante de colônia de macrófagos (M-CSF) (fig. 1) (UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020).

Durante os processos inflamatórios, os monócitos podem diferenciar-se em macrófagos pela ação do M-CSF, ou em células dendríticas sob influência do GM-CSF e da IL-4 (fig. 1) (Conti et al. 2014; UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). O GM-CSF influencia a diferenciação e crescimento das células dendríticas a partir de células mononucleares do sangue periférico, e ainda a sua viabilidade, maturação e função. Em contrapartida, a IL-4 inibe a diferenciação dos monócitos em macrófagos (Conti et al. 2014).

As células dendríticas provenientes de monócitos são caracterizadas pelo seu estado imaturo e encontram-se no tecido epitelial, sendo que, após haver contato com estímulos antigênicos, migram para os linfonodos para completar o seu processo de maturação. Neste processo de imigração, as células dendríticas perdem a capacidade de capturar e processar antígenos e aumentam a expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) II e de moléculas co-estimuladoras (CD40, CD80, CD86), transformando-se em potentes células apresentadoras de antígenos, provocando uma mudança essencial no desenvolvimento da resposta imune (Conti et al. 2014). Assim, as células imaturas possuem altos níveis de receptores para quimiocinas (CCR) como CCR1, CCR5 e CCR6, baixos níveis de CCR7 e de moléculas co-estimuladoras CD80, CD86 e CD40, enquanto que as células maduras caracterizam-se pela grande expressão de moléculas de MHC II, CCR7, CD80, CD86 e CD40 (Conti et al. 2014).

Os queratinócitos epidérmicos produzem TGF- $\beta$ 1, que ao atuar sobre as células precursoras dérmicas CD14+, diferencia-as em células de Langerhans (fig.1) (UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). As células dendríticas plasmocitoides são a maior fonte de citocinas antivirais. Aquelas produzem interferão do tipo I, respondendo precocemente nas infecções virais e expressam os *Toll-like receptors* (TLR) endossômicos responsáveis pelo reconhecimento dos ácidos nucleicos virais que são internalizados por estas células (Conti et al. 2014).



**Figura 1- Diferenciação de macrófagos e células dendríticas- Citocinas e fatores de crescimento.** SCF e Flt-3 amplificam a diferenciação histiocitária, em especial para as células dendríticas. GM-CSF e TNF $\alpha$  promovem a diferenciação em células dendríticas (intersticiais e de Langerhans). TGF- $\beta$  influencia a diferenciação em células de Langerhans. M-CSF diferencia os monócitos em macrófagos e a ação do GM-CSF e da IL-4 sobre os monócitos diferencia-os em células dendríticas. (UCDAVIS *Veterinary Medicine: Histiocytic Lineages*; acesso a 10 de abril 2020)



### 2.1.2 Imunofenotipagem

A apresentação clínica, prognóstico e resposta à terapia das doenças histiocíticas caninas podem ser muito variáveis entre si. Além disso, pode ser um desafio diferenciar estas doenças de linfomas e processos inflamatórios granulomatosos ou reativos, utilizando técnicas histopatológicas convencionais (Vail et al. 2020). Com os recentes avanços no desenvolvimento de marcadores capazes de identificar e caracterizar uma variedade de células hematopoiéticas caninas, é possível identificar o tipo de células envolvidas nas doenças proliferativas histiocíticas.

A técnica de imunohistoquímica para este tipo de tumores utiliza anticorpos monoclonais contra os antígenos da superfície citoplasmática dos leucócitos, conhecidos como *cluster of cell differentiation antigens* (conjunto de antígenos diferenciadores de tipos de células), conhecidos como CD. Estes antígenos podem variar de acordo com a linhagem celular e estado de diferenciação, e ainda, conforme o estado de inativação ou ativação dos leucócitos (Wobeser 2009).

As células dendríticas caninas expressam abundantemente moléculas CD1a, que em conjunto com moléculas do MHC I e II, são responsáveis pela apresentação de peptídeos, lípidos e glucolípidos às células T (Vail et al. 2020). No entanto, as moléculas de CD1a são mais específicas para as células dendríticas da pele, enquanto que a expressão do MHC I e II é mais ampla (Moore 2014; Vail et al. 2020).

As  $\beta 2$ -integrinas são moléculas importantes na adesão celular e estão presentes na superfície de todos os leucócitos (Fernandez et al. 2005; Daleck e Nardi 2016). São moléculas heterodiméricas que consistem numa subunidade  $\beta$  (CD18) que emparelha com uma das 4 subunidades  $\alpha$  ( $\alpha_L$ -CD11a,  $\alpha_M$ -CD11b,  $\alpha_X$ -CD11c, e  $\alpha_D$ -CD11d). Assim, a função e a expressão específica das  $\beta 2$ -integrinas nos tipos celulares varia consoante a subunidade  $\alpha$  envolvida. Em termos gerais, CD11a é expressa em todos os leucócitos, enquanto que CD11b, CD11c e CD11d são expressas principalmente por monócitos, macrófagos e células dendríticas. CD11c/CD18 é expressa por células dendríticas intersticiais e células de Langerhans, embora alguns subconjuntos de células dendríticas dérmicas também expressem CD11b. No caso dos macrófagos, estes expressam CD11b e CD11d, sendo que a subunidade CD11d é específica para macrófagos residentes em tecidos hematopoiéticos, como a polpa vermelha esplénica e a medula óssea (Schittenhelm et al. 2017).

Atualmente, os critérios imunohistoquímicos mais úteis para identificar células histiocíticas em tecidos fixados em formol a 10% e incluídos em parafina (FFEP) são a positividade para o marcador CD18, juntamente com o resultado negativo para os marcadores CD3 e CD79a para descartar a origem linfocítica (Fernandez et al. 2005).

As células de Langerhans e as células dendríticas intersticiais podem ser distinguidas pela expressão diferencial da E-caderina e Thy-1 (CD90), respetivamente (Meuten 2017; Vail et al. 2020). A E-caderina é responsável pela adesão seletiva das células de Langerhans aos queratinócitos, sendo que após contato com o antígeno a sua expressão diminui, permitindo a migração destas células para os linfonodos (Jakob e Udey 1998). Por outro lado, a CD90 é uma molécula de superfície celular com ampla distribuição nas células e tecidos, que é expressa pelas células dendríticas intersticiais da pele, mas não pelas células de Langerhans (Meuten 2017). A expressão de CD90 e CD4 ajuda na identificação de células dendríticas intersticiais ativadas (Vail et al. 2020).

A CD204 participa em vários processos metabólicos dos macrófagos e a sua expressão ocorre preferencialmente nessas células. No entanto, também já foi descrita em células do músculo liso da parede vascular, células endoteliais, microglia, entre outras (Kelley et al. 2014).

A Iba1, que medeia os sinais de cálcio nas linhagens celulares monocíticas e histiocíticas, também pode ser utilizada como um marcador para identificar este tipo de células em cães (Ide et al. 2011).

No entanto é preciso ter em conta que alguns marcadores celulares de doenças histiocíticas não podem ser utilizados em cortes de tecido FFEP, como por exemplo, CD1a, CD11c, CD11b, CD80 e CD86 (Meuten 2017).

Em suma, o desenvolvimento de anticorpos monoclonais direcionados para a marcação de células dendríticas e macrófagos permite a identificação das diferentes células nos tecidos e, conseqüentemente, melhorar o diagnóstico definitivo das doenças histiocíticas (tabela 1).

**Tabela 1- Marcadores de doenças histiocíticas caninas**

Doença	Origem Celular	Imunofenotipagem
<b>Histiocitoma</b>	Células de Langerhans	CD1a+, CD11c/CD18+, E-caderina+, Iba1 +
<b>Histiocitose cutânea de células de Langerhans</b>	Células de Langerhans	CD1a+, CD11c/CD18+, E-caderina+, Iba1+
<b>Histiocitose cutânea</b>	Células dendríticas intersticiais ativadas	CD1a+, CD11c/CD18+, CD90+, CD4+, Iba1+
<b>Histiocitose sistêmica</b>	Células dendríticas intersticiais ativadas	CD1a+, CD11c/CD18+, CD90+, CD4+, Iba1+
<b>Sarcoma histiocítico</b>	Células dendríticas intersticiais	CD1a+, CD11c/CD18+, CD204±, Iba1+
<b>Sarcoma histiocítico hemofagocítico</b>	Macrófagos	CD1a±, CD11d/Cd18+, CD204+, Iba1+

CD- *cluster of cell differentiation antigens* (conjunto de antígenos diferenciadores de tipos de células)  
 + Expressão forte na maioria das células; ± Expressão variável em uma subpopulação de células

### **3. Doenças Histiocíticas Caninas**

Existem várias doenças proliferativas histiocíticas conhecidas nos cães. O histiocitoma cutâneo, o sarcoma histiocítico localizado e disseminado e o sarcoma histiocítico hemofagocítico correspondem a patologia neoplásica, enquanto que a histiocitose cutânea e sistêmica classificam-se como alterações reativas. A etiologia e patogênese destas doenças ainda são desconhecidas e, muitas vezes, pode ser difícil conseguir distinguir de inflamações granulomatosas ou de tumores de células redondas como o linfoma. Atualmente, a terminologia utilizada para denominar estas síndromes baseia-se na sua distribuição e linhagem celular.

O histiocitoma cutâneo canino é uma doença neoplásica benigna comum em cães jovens (menos de 3 anos de idade) (Miller et al. 2013; Meuten 2017). Tem origem nas células de Langerhans e surge sob a forma de um nódulo cutâneo solitário que, apesar do seu crescimento rápido (1-4 semanas), pode sofrer regressão espontânea 1 a 2 meses após a sua apresentação (Miller et al. 2013; Vail et al. 2020). Por outro lado, a histiocitose cutânea caracteriza-se por uma proliferação benigna das células dendríticas intersticiais perivasculares, que afeta cães de meia-idade a velhos (Miller et al. 2013). A sua apresentação clínica é comumente descrita como múltiplos nódulos cutâneos, crostas e/ou áreas de despigmentação na zona da face, orelhas, nariz, pescoço, tronco, extremidades, períneo e escroto, que podem aumentar e diminuir de tamanho com o tempo (Miller et al. 2013). A histiocitose sistêmica corresponde à forma disseminada da histiocitose cutânea, afetando a pele e órgãos internos como o pulmão, baço, fígado e medula óssea (Miller et al. 2013).

O sarcoma histiocítico localizado ou disseminado tem origem na proliferação de células dendríticas intersticiais, levando à formação de múltiplas lesões que podem afetar apenas um órgão (principalmente baço e pele), ou vários órgãos devido à sua rápida disseminação (Vail et al. 2020). No entanto, a forma hemofagocítica do sarcoma histiocítico é uma patologia distinta que tem origem nos macrófagos da polpa vermelha esplênica e da medula óssea e que, mais tarde, pode progredir para o fígado e pulmões (Moore et al. 2006; Vail et al. 2020).

#### **3.1. Histiocitoma Cutâneo**

O histiocitoma cutâneo é um tumor benigno originário de células de Langerhans da epiderme que se localizam entre os queratinócitos. A maior parte dos histiocitomas afeta cães jovens com menos de 3 anos. Contudo, pode ocorrer em cães de todas as idades (Miller et al. 2013; Vail et al. 2020). Não existe predileção quanto à raça e género, mas é mais frequentemente documentado em Boxers, Dachshunds, Cocker Spaniels,

Great Danes, cão pastor Shetland e Bull Terriers (Henry e Higginbotham 2010; Miller et al. 2013).

Em virtude da sua aparência, os histiocitomas são conhecidos pelo termo “tumor em botão”, por macroscopicamente formarem nódulos ou placas eritematosas em forma de cúpula (fig.2) (Silva et al. 2015). Os nódulos, que na sua maioria são únicos, podem chegar a ter 4 cm de diâmetro mas a maioria tem menos de 2 cm, são bem delimitados, firmes, alopecicos, por vezes ulcerados e com umbilicação central (Meuten 2017; UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). Localizam-se preferencialmente na região da cabeça e pavilhão auricular mas também podem se desenvolver no pescoço e membros (Henry e Higginbotham 2010; UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). A proliferação histiocítica ocorre na zona superficial a profunda da derme e pode-se estender para o tecido subcutâneo (Meuten 2017). No entanto, os histiócitos tumorais podem invadir a epiderme em células individuais ou em grupo, tornando difícil diferenciar o histiocitoma cutâneo do linfoma das células T epiteliotrópico (Meuten 2017; UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). A sua diferenciação e diagnóstico definitivo só é possível com recurso a imunohistoquímica utilizando anticorpos CD3 (marcador de linfócitos T) e CD18 (marcador de células histiocíticas) (Fontaine et al. 2009).

A recidiva dos histiocitomas cutâneos é rara e, até à data, não foram descritas metástases (Kaim et al. 2006). São tumores dinâmicos que apresentam crescimento rápido (1 a 4 semanas) seguido, na maioria das vezes, de regressão espontânea 1 a 2 meses após a sua apresentação (Miller et al. 2013). Desconhece-se ao certo os factores que determinam a regressão tumoral mas, segundo Moore et al. (2014), o tumor é infiltrado por linfócitos em que predominam células T CD8+ que possuem potencial citotóxico e assim provocam a lise das células histiocíticas neoplásicas. Num estudo realizado por Kaim et al. (2006), a predominância de células T CD8+ observada em estudos anteriores foi confirmada em todos os grupos tumorais classificados segundo o grau e distribuição da infiltração linfocítica, à exceção de um grupo designado I, em que a infiltração linfocítica era ausente ou mínima, neste caso, restrita principalmente à periferia do tumor. No caso do grupo I, ocorreu uma mudança significativa na relação CD4/CD8, existindo maior prevalência de células T CD4+ relativamente às T CD8+. De facto, sabe-se que as células T CD4+ desempenham um papel importante na iniciação da resposta imune anti-tumoral por promoverem a libertação de citocinas e por serem essenciais na apresentação cruzada, ou seja, por terem a capacidade de captar, processar e apresentar antígenos extracelulares às células T CD8+ (células T citotóxicas). Assim, Kaim et al. (2006) acreditam que a proporção elevada de células T CD8+ nos histiocitomas em regressão observada em estudos anteriores, pode ser devida a uma ação inicial das células T *helper*. Para além disso, as células T CD4+

desempenham um papel fundamental no recrutamento de células como os macrófagos, que exercem um papel adicional anti-tumoral pela síntese de metabolitos como o óxido nítrico. Kaim et al. (2006), observaram ainda um aumento de citocinas Th1 como a IL- 2, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (interferão  $\gamma$ ) durante o período de regressão tumoral. A IL-2 contribui para a redução de células tumorais através da geração de células T *killer* ativadas por linfocinas e, o IFN- $\gamma$ , para além de ser um fator importante na indução da resposta imune mediada por Th1, aumenta o potencial citotóxico das células T CD8+. Por fim, o TNF- $\alpha$  provoca a proliferação de células T e células *natural killer*, induz a apoptose e, em grandes concentrações, causa necrose tumoral por trombose dos vasos sanguíneos.

Em suma, pensa-se que a infiltração celular, o aumento de expressão de citocinas Th1 e o recrutamento de células com efeito anti-tumoral provocam a regressão de tumores com origem em células Langerhans.



**Figura 2- Histiocitoma cutâneo canino.** Lesão com 2 cm de diâmetro, em forma de “botão”, parcialmente alopecica no antebraço de um Cocker Spaniel macho de sete meses de idade. (TVP, “*Common Neoplastic Skin Lesions in Dogs & Cats: Cytologic Diagnosis & Treatments*” a 25/05/2020)

### 3.1.1. Diagnóstico

A biópsia aspirativa com agulha fina, seguida de avaliação citopatológica, por norma confere o diagnóstico presuntivo de histiocitoma cutâneo. Contudo, a avaliação histopatológica e imunohistoquímica podem ser necessárias em histiocitomas múltiplos ou que não tenham sofrido regressão.

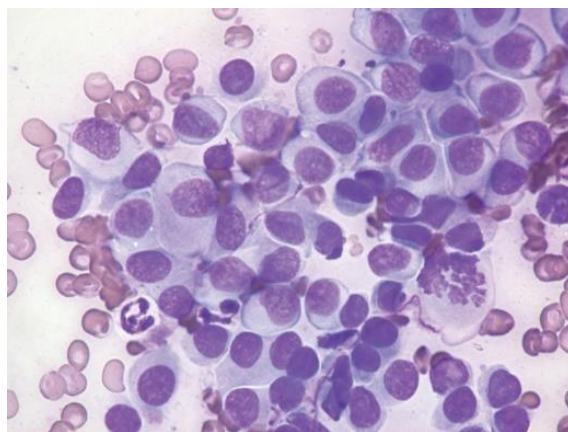
Ao analisar a superfície de corte dos histiocitomas cutâneos, a sua consistência é macia, de coloração branca a levemente amarelada e podem ser observados focos de necrose (Silva et al. 2015).

Os histiócitos tumorais podem apresentar uma variedade de características citológicas, dependendo do tempo de evolução do tumor e do grau de inflamação secundária (Daleck e Nardi 2016; Meuten 2017). Microscopicamente, as células

possuem formato redondo a poligonal e estão dispostas em toalha ou cordões, sendo que, na região de transição dermo-epidérmica, as células organizam-se em cordões paralelos isolados, separados por estroma pouco denso (Silva et al. 2015; Henry e Higginbotham 2010). As células tumorais possuem núcleos redondos, ovais ou reniformes e o nucléolo é pequeno e pouco perceptível (UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). Com menor frequência, podem ser observados histiócitos multinucleados (Meuten 2017; UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020). O citoplasma geralmente é abundante e eosinofílico, ocasionalmente, pode conter vacúolos (Meuten 2017). Observa-se anisocitose e anisocariose moderadas, mas a atipia nuclear e o polimorfismo não são comuns (fig.3) (Silva et al. 2015). A contagem mitótica nos histiocitomas é muito variável mas considerável apesar do seu comportamento benigno (UCDAVIS acedido a 28 de abril 2020).

Podem estar presentes focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na derme superficial, em especial na fase de regressão tumoral (Henry e Higginbotham 2010).

As células de Langerhans expressam antigénios leucocitários característicos da diferenciação celular dendrítica, incluindo CD1a, CD1b, CD1c e CD11c (Fernandez et al. 2005). Entre os leucócitos da pele, a expressão de E-caderina é restrita às células de Langerhans (Meuten 2017). Atualmente, os critérios imunohistoquímicos mais úteis na identificação de células histiocíticas em tecidos FFEP, são a positividade para CD18, juntamente com resultados negativos para CD3 e CD79a, que descartam origem linfocítica (Fernandez et al. 2005). O marcador CD1a é característico das células de Langerhans da epiderme. No entanto, o único anticorpo monoclonal comercializado para uso em tecidos FFEP só foi desenvolvido para uso em tecidos humanos (Fernandez et al. 2005).



**Figura 3- Citologia do histiocitoma cutâneo.** Coloração Diff Quick, ampliação 50x. Observação de população de células redondas com citoplasma moderado a abundante e margens citoplasmáticas evidentes. Presença de anisocitose. (TVP, *“Common Neoplastic Skin Lesions in Dogs & Cats: Cytologic Diagnosis & Treatments”* a 25/05/2020)

### **3.1.2. Tratamento e Prognóstico**

O tratamento destas afeções pode incluir excisão cirúrgica, criocirurgia, eletrocirurgia ou seguimento clínico com observação das lesões sem tratamento (Miller et al. 2013).

A maioria dos histiocitomas sofre regressão espontânea em algumas semanas sem tratamento. Terapias imunossupressoras, incluindo o uso de corticosteroides, são contraindicadas por interferirem com a regressão tumoral ao inibirem a infiltração de células T CD8+ (Affolter 2004). Nos casos de regressão retardada, ulceração e infecção da superfície das lesões ou localização desconfortável, a excisão cirúrgica é recomendada (Affolter 2004; Miller et al. 2013).

O recurso a quimioterapia para tratamento de histiocitomas múltiplos não foi bem sucedido até hoje (Affolter 2004).

As lesões solitárias têm um bom prognóstico, sendo que ocorre regressão espontânea com a evolução da lesão. O envolvimento dos linfonodos em casos de lesões únicas ou múltiplas também diminui subsequentemente à regressão das lesões primárias da pele (Affolter 2004).

### **3.2. Histiocitose Cutânea de Células de Langerhans**

A histiocitose cutânea de células de Langerhans (HCCL) é uma doença que compreende lesões cutâneas múltiplas ou difusas com características morfológicas idênticas ao histiocitoma cutâneo canino (Vail et al. 2020). Apesar de não ser uma doença muito comum tem maior prevalência em cães Shar Pei, podendo no entanto ocorrer em qualquer raça (Meuten 2017).

Os cães afetados podem apresentar múltiplas lesões cutâneas que variam desde nódulos a massas que podem ser acompanhadas de eritema, alopecia e ulceração (fig.4 A) (Meuten 2017). Inicialmente, as lesões podem estar limitadas à pele ou envolver a pele e os linfonodos regionais (Kaim et al. 2006; Moore 2014). Podem surgir lesões nas junções mucocutâneas e cavidade oral e, mais raramente, pode haver envolvimento dos órgãos internos (Moore 2014).

Pode ocorrer regressão tardia dos histiocitomas cutâneos múltiplos, mesmo em casos de doença generalizada e as lesões podem persistir até 10 meses depois do início da regressão (Meuten 2017; Vail et al. 2020). Nos casos em que ocorrem metástases nos linfonodos a regressão espontânea, por norma, não ocorre e o prognóstico é pior (Meuten 2017).

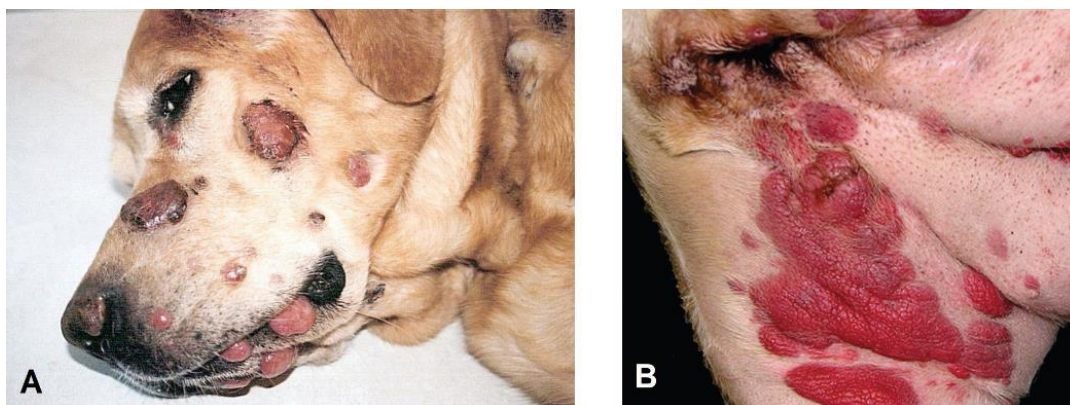
A HCCL pode disseminar-se da pele e dos linfonodos regionais para os órgãos internos, afetando essencialmente os linfonodos periféricos e pulmão. Nestes casos a



doença é mais grave e progressiva e, consequentemente, os cães afetados acabam por terem de ser eutanasiados ou morrerem da doença (Moore 2014; Meuten 2017).

Contudo, existe um caso publicado por Nagata et al. em 2000, de um cão Dachshund miniatura de 8 meses com HCCL limitado à pele, que respondeu com sucesso ao tratamento com griseofulvina, um antifúngico imunomodulador. Inicialmente foi instituída terapêutica com prednisolona oral 2mg/kg BID durante dois meses, mas não se observou regressão das lesões e a condição geral do cão piorou, com desenvolvimento de anorexia e depressão. Eventualmente, foi administrada griseofulvina 30mg/kg BID e ocorreu melhoria da condição geral do paciente ao fim de uma semana. Além disso, o tamanho das lesões diminuiu gradualmente e notou-se uma resolução total das lesões ao fim de 7 semanas de tratamento. Infelizmente, o cão acabou por morrer de doença sistêmica após 3 meses de o tratamento com griseofulvina ter sido descontinuado a pedido do tutor.

Na maioria dos casos, os cães afetados com HCCL são eutanasiados devido à falta de regressão das lesões e a complicações no controlo de lesões ulcerativas extensas que estão frequentemente presentes (Meuten 2017).



**Figura 4- Histiocitose cutânea de células de Langerhans.** A- Múltiplas lesões que afetam a zona da face e junções mucocutâneas, acompanhadas de eritema e alopecia; B- Na apresentação inicial surgem placas elevadas vermelhas que posteriormente coalescem e crescem rapidamente. (UCDAVIS, “*Histiocytosis- Histiocytoma Complex*” a 25/05/2020 e Meuten, Donald J., “*Tumors in Domestic Animals*”, 5ª Edição, p.327)

### 3.3. Histiocitoses Reativas

As histiocitoses reativas caracterizam-se pela proliferação não neoplásica de células dendríticas intersticiais e correspondem a alterações inflamatórias ricas em histiócitos e linfócitos (Meuten 2017). De acordo com a localização das lesões, a histiocitose pode ser classificada em histiocitose cutânea e histiocitose sistêmica. Assim, pode afetar a pele e os linfonodos locais e regionais (histiocitose cutânea) ou a pele e outros órgãos (histiocitose sistêmica) (UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acesso a 28 de abril 2020).



A etiologia de ambas as doenças é desconhecida, no entanto, estão associadas a um desequilíbrio nos mecanismos de resposta do sistema imunitário, que leva à persistência das lesões (Moore 2014). Calcula-se que as lesões sejam derivadas de estimulação persistente por antígenos, mas nenhum agente etiológico ou antigénico foi identificado até hoje (Moore 2014). No geral, a histiocitose cutânea é uma doença mais comum que a histiocitose sistémica (Moore 2014).

As lesões são maioritariamente formadas por células dendríticas intersticiais dérmicas ativadas e células T, que frequentemente infiltram as paredes dos vasos dérmicos, ocorrendo vasculite linfocítica (Moore 2014). As lesões irradiam de vasos afetados e coalescem até formarem massas, especialmente na derme profunda e no pânículo (UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acesso a 28 de abril 2020).

### **3.3.1. Histiocitose Cutânea**

A histiocitose cutânea corresponde a uma proliferação benigna de células dendríticas dérmicas perivasculares (Miller et al. 2013). A idade dos pacientes afetados varia de meia-idade a velhos, sem predileção sexual (Henry e Higginbotham 2010). No entanto, apesar de poder surgir em qualquer raça, Collies e cães pastor de Shetland aparentam ter alguma predisposição para esta doença (Miller et al. 2013).

Caracteriza-se pelo desenvolvimento de nódulos, placas, úlceras, crostas e/ou áreas de despigmentação na pele e tecido subcutâneo, não pruríticas e indolores, sem envolvimento sistémico (Henry e Higginbotham 2010; Daleck e Nardi 2016). As lesões localizam-se principalmente na face, orelhas, nariz, pescoço, tronco, membros (incluindo extremidades), períneo e escroto dos animais afetados e podem estender-se até aos linfonodos locais (Henry e Higginbotham 2010; Moore 2014).

Observam-se nódulos cutâneos e subcutâneos, múltiplos ou únicos, que podem chegar a ter 4 cm de diâmetro (fig.5) (Moore 2014). As lesões caracterizam-se ainda por aumentarem e diminuírem de tamanho com o tempo, podendo desaparecer e surgir noutros locais simultaneamente (Miller et al. 2013; Moore 2014). É raro surgirem lesões únicas (Moore 2014).



**Figura 5- Histiocitose Cutânea Canina.** Golden Retriever com lesões cutâneas de histiocitose, sem envolvimento da mucosa. (UCDAVIS, “*Histiocytosis- Canine Reactive Histiocytosis*” a 25/05/2020)

### 3.3.1.1. Diagnóstico

Histologicamente, as lesões apresentam um infiltrado pleocelular angiocêntrico, frequentemente perivascular, na derme e tecido subcutâneo (Vail et al. 2020). O infiltrado pleocelular é composto, na sua maioria, por histiócitos e linfócitos e em menor quantidade por neutrófilos, plasmócitos e eosinófilos (fig.6) (Vail et al. 2020; UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acedido a 28 de abril 2020). A inflamação pode estender-se ao longo da vasculatura dérmica até à derme superficial. O infiltrado celular forma densos aglomerados celulares ao redor dos vasos e, em alguns casos, pode ocorrer invasão vascular (fig.6). Consequentemente, ocorre trombose e necrose tecidual (UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acedido a 28 de abril 2020). De um modo geral, não se observa epidermotropismo mas pode estar presente foliculotropismo (Miller et al. 2013).

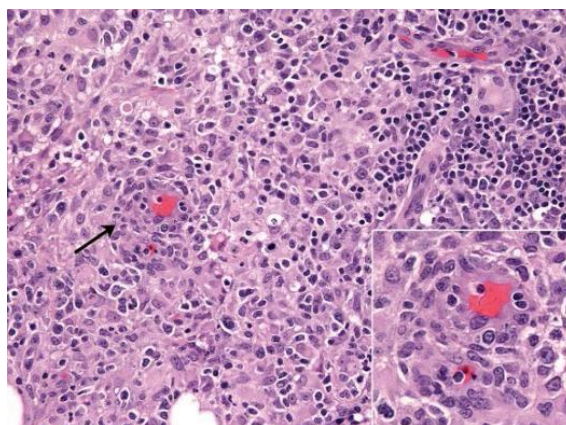
Microscopicamente, os histiócitos presentes na histiocitose cutânea apresentam núcleos redondos a ovais, indentados, dobrados ou torcidos, citoplasma abundante e eosinofílico pálido, e ainda, nucléolos quase imperceptíveis (Miller et al. 2013; UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acedido a 28 de abril de 2020). Estão presentes várias células inflamatórias mas observa-se menos frequentemente células gigantes multinucleadas e eritrografia (Miller et al. 2013). Histiócitos multinucleados e com núcleos deformados e figuras mitóticas, característicos do histiocitoma cutâneo, não são observados na histiocitose cutânea (Moore 2014).

O linfoma cutâneo de células T não epiteliotrópico inflamado é facilmente confundido com a histiocitose cutânea (Moore 2014; UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acedido a 28 de abril de 2020). A sua diferenciação pode ser feita através da identificação de aglomerados de células T citologicamente atípicas e pela expressão variável de CD3 pelas células T neoplásicas (Moore 2014).

Os histiócitos na histiocitose cutânea expressam marcadores típicos das células dendríticas como CD1a, C11c/CD18 e MHC II (Moore 2014). A expressão de Thy-1

(CD90) e CD4 (marcador da ativação de células dendríticas) ajuda na identificação da origem celular da histiocitose, que é causada por células dendríticas intersticiais ativadas. Não ocorre expressão de E-caderina (Vail et al. 2020). Desta forma, as características imunofenotípicas observadas na histiocitose cutânea são inversas das do histiocitoma cutâneo, em relação à expressão de CD4, CD90 e E-caderina (Moore 2014; UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis acessado a 28 de abril de 2020). No entanto, os marcadores CD1a, CD4 e CD11c não podem ser utilizados em tecidos fixados por formol a 10%, estando apenas disponíveis os marcadores CD90, CD18, MHC II e E-caderina para ajudar na identificação celular (Moore 2014).

Paralelamente ao diagnóstico histopatológico e imunohistoquímico da histiocitose reativa cutânea devem ser realizados exames complementares como hemograma, perfil bioquímico sérico, radiografia de tórax e ecografia abdominal para descartar o envolvimento sistêmico típico da histiocitose sistêmica (Daleck e Nardi 2016).



**Figura 6- Histiocitose cutânea ao microscópio óptico.** Observação ao microscópio óptico de lesão vasocêntrica com vasculite linfohistiocítica (seta e imagem ampliada no canto inferior direito) e infiltrado perivascular linfohistiocítico. (Meuten, Donald J., “*Tumors in Domestic Animals*”, 5ª Edição, p.332)

### 3.3.1.2. Tratamento e Prognóstico

A histiocitose reativa cutânea apresenta uma progressão benigna, sendo observada remissão espontânea em alguns casos (Miller et al. 2013). A excisão cirúrgica proporciona resultados satisfatórios, mas não previne o aparecimento de novas lesões (Coomer e Liptak 2008).

Visto que a histiocitose reativa resulta da desregulação do sistema imunitário, os corticosteróides sistêmicos são habitualmente utilizados como terapia de primeira linha nestes casos (Vail et al. 2020). Num estudo realizado em 2007 por Palmeiro et al., avaliou-se a resposta à terapia inicial de prednisona como terapia única ou em combinação com antibióticos (n=12), prednisona com tetraciclina/doxiciclina e

niacinamida (n=4), prednisona e azatioprina (n=3), combinação de tetraciclina e niacinamida como terapia única ou em combinação com vitamina E ou ácidos gordos essenciais (n=6), antibióticos sozinhos ou combinados com anti-histamínicos (n=2), ciclosporina e cetoconazol (n=1), terapia tópica (n=2) e ausência de tratamento (n=1). A dosagem diária de prednisona utilizada foi de 0.5-2mg/kg. Apesar dos vários regimes terapêuticos instituídos, os resultados clínicos observados foram muito semelhantes em todos os cães, tendo ocorrido remissão das lesões cutâneas em todos os pacientes num período médio de 45 dias.

Apesar da boa resposta inicial, a utilização de terapias de manutenção de longo prazo podem ser necessárias para evitar recidivas. A terapia de manutenção neste estudo foi aplicada a 17 cães e consistia na administração de tetraciclina/niacinamida como terapia única ou em combinação com vitamina E ou ácidos gordos essenciais (n=12), ciclosporina/cetoconazol 2 a 3 vezes por semana (n=2), azatioprina diária (n=1), prednisona/azatioprina 2 vezes por semana (n=1) e prednisona diária (n=1). Concluiu-se que a utilização de tetraciclina/niacinamida foi uma boa opção de terapia de manutenção para a população em estudo e que, apesar de afetados, estes cães apresentaram um tempo de sobrevivência prolongado.

Fármacos imunossupressores como leflunomida, ciclosporina A/cetoconazol e azatioprina demonstraram ter eficácia no tratamento de lesões refratárias a corticosteróides (Vail et al. 2020).

O prognóstico da histiocitose cutânea é reservado em consequência do índice elevado de recorrência das lesões e da necessidade de terapia imunossupressora a longo prazo. No entanto, a taxa de mortalidade associada a esta doença é extremamente baixa (Daleck e Nardi 2016).

### **3.3.2. Histiocitose Sistémica**

A histiocitose sistémica canina foi originalmente descrita em cães de meia-idade a velhos, machos, da raça boieiros de Berna e aparenta ter uma associação familiar que sugere o envolvimento de mecanismos genéticos na etiologia e patogenia da doença (Moore 1984). Desde então tem sido documentada em Rottweiler, Golden Retriever, Labrador Retriever e Wolfhound Irlandês, com início dos sinais entre os 3 e os 9 anos de idade (Miller et al. 2013).

É uma doença proliferativa histiocítica generalizada, semelhante à histiocitose cutânea, mas com marcada tendência para envolver pele, mucosa nasal e ocular e linfonodos periféricos (fig.7) (Meuten 2017). O tecido subcutâneo, olhos, epitélio nasal, linfonodos, medula óssea, fígado, baço, pulmão e mucosas são frequentemente afetados (Vail et al. 2020). Desta forma, ao contrário da histiocitose cutânea, os

linfonodos periféricos podem ser facilmente palpáveis devido à infiltração histiocítica e pode ocorrer envolvimento simultâneo de múltiplos órgãos (Miller et al. 2013).

Os sinais clínicos dependem do tecido afetado e da gravidade da doença. No entanto, anorexia, perda de peso, estertores respiratórios e conjuntivite são comumente identificados (Moore 1984; Vail et al. 2020). Ao exame físico podem observar-se múltiplos nódulos cutâneos distribuídos pelo corpo inteiro. Contudo, a sua ocorrência é mais prevalente na zona do escroto, extremidade nasal, plano nasal e pálpebras (Moore 1984). As lesões na extremidade nasal podem estender-se até à mucosa e produzir edema acentuado na mucosa nasal, acompanhado de estridor respiratório e secreção nasal (Moore 1984). O envolvimento das pálpebras frequentemente coincide com hiperémia conjuntival marcada, quemose e edema da córnea (Moore 1984).

A superfície das lesões pode ter uma aparência normal, eritematosa ou ulcerada e estas podem ser dolorosas ou assintomáticas (Miller et al. 2013). À semelhança da histiocitose cutânea, as lesões podem diminuir ou aumentar de tamanho com o tempo mas não sofrem resolução espontânea (Vail et al. 2020).



**Figura 7- Histiocitose sistémica num cão Boieiro de Berna.** Lesões de histiocitose sistémica que afetam as mucosas nasal e ocular. (UCDAVIS, “*Histiocytosis- Canine Reactive Histiocytosis*” a 25/05/2020)

### **3.3.2.1. Diagnóstico**

Cães com histiocitose sistémica podem apresentar resultados laboratoriais anormais incluindo anemia, monocitose e linfopenia e, ocasionalmente, hipercalcémia (Vail et al. 2020).

As características microscópicas da pele na histiocitose sistémica e cutânea são praticamente idênticas (UCDAVIS Canine Reactive Histiocytosis aceso a 28 de abril de 2020). Histologicamente, estas lesões caracterizam-se por infiltrados histiocíticos angiocêntricos, nodulares e multicêntricos na derme profunda e pânículo (Miller et al. 2013). Populações variáveis de linfócitos, neutrófilos e eosinófilos podem estar

presentes (Miller et al. 2013). No entanto, ao contrário do que acontece no histiocitoma cutâneo, os linfócitos presentes na histiocitose reativa não estão associados à regressão espontânea, sendo resultantes da migração induzida por citocinas (Miller et al. 2013).

Os histiócitos frequentemente invadem as paredes de pequenas veias ou artérias musculares e irradiam para os tecidos perivasculares, provocando trombose dos vasos infiltrados e áreas focais de necrose de coagulação associada (Moore 1984).

As células histiocitárias observadas caracterizam-se por terem citoplasma abundante e eosinofílico, núcleo ovóide, indentado ou torcido, nucléolo muitas vezes impercetível e cromatina finamente dispersa ou condensada à volta da membrana nuclear (Moore 1984). Raramente, observam-se histiócitos gigantes multinucleados e a contagem de mitoses é frequentemente baixo (Moore 1984).

Além da pele, a ampla distribuição das lesões na histiocitose sistêmica só é completamente apreciada através da necrópsia. As lesões histiocíticas podem ocorrer no pulmão, fígado, medula óssea, baço, linfonodos periféricos e viscerais, rins, tecido orbital, mucosa nasal entre outros locais (Moore 2014). Estas lesões são vasocêntricas e o infiltrado de histiócitos, linfócitos e neutrófilos, irradia para o tecido circundante, obliterando-o (Miller et al. 2013; Moore 2014). As lesões nestes locais podem ser apenas microscópicas, mas também já foi referida a observação de massas (Moore 2014).

O padrão de expressão imunofenotípico na histiocitose sistêmica é idêntico ao da histiocitose cutânea (Moore 2014). As lesões da histiocitose sistêmica apresentam positividade para os marcadores CD1, CD11c, MHC II, Thy-1 e CD4, o que é característico de células dendríticas intersticiais ativadas (Miller et al. 2013).

O diagnóstico definitivo é estabelecido mediante os sinais clínicos e achados dos exames complementares compatíveis com o envolvimento sistêmico.

### **3.3.2.2. Tratamento e Prognóstico**

Como acontece na histiocitose cutânea, as lesões podem diminuir e aumentar de tamanho com o tempo, mas em geral não ocorre resolução espontânea da doença (Henry e Higginbotham 2010).

Terapias isoladas com corticosteróides aparentemente são ineficazes a longo prazo (Vail et al. 2020). Contudo, a utilização de azatioprina, ciclosporina A e leflunomida tem demonstrado ser capaz de controlar alguns casos a longo prazo. O uso de doxorrubicina também apresenta algumas respostas positivas (Affolter e Moore 2002). A ciclosporina e a leflunomida têm capacidade para inibir as células T (Miller et al. 2013). O sucesso do tratamento com estes fármacos sugere que as células T apresentam um papel importante na histiocitose sistêmica (Affolter e Moore 2002).

Segundo Affolter e Moore (2002), citados por Vail et al. (2020), considera-se que a

desregulação nos mecanismos do sistema imunitário possa ocorrer devido a um aumento local de citocinas (GM-CSF, IL-4, TNF) produzidas pelas células T devido à acumulação persistente de células dendríticas, e ainda, à interação inapropriada entre células dendríticas e células T devido à regulação anormal de ligandos acessórios nos dois tipos celulares. Estas moléculas são necessárias para indução da resposta imune e sua subsequente regulação. Sem uma interação adequada as células podem prolongar a sua permanência no local da estimulação.

As lesões oculares costumam ser mais difíceis de resolver e pode ser necessário a aplicação de gotas oftálmicas de ciclosporina (Henry e Higginbotham 2010; Miller et al. 2013).

O decurso clínico da doença é prolongado mas raramente resulta na morte do paciente (Henry e Higginbotham 2010). No entanto, o prognóstico da histiocitose sistêmica é desfavorável em virtude dos episódios alternados de resposta à terapia seguidos de recidiva dos sinais clínicos. Alguns cães chegam a ser eutanasiados devido a repetidas recaídas e falhas na resposta terapêutica (Affolter e Moore 2002).

### **3.4. Sarcoma Histiocítico**

O sarcoma histiocítico pode apresentar-se como uma neoplasia disseminada ou localizada em que, frequentemente, ocorrem metástases generalizadas com um resultado final fatal (Dervisis et al. 2017). Ambas as formas têm origem em células dendríticas intersticiais apresentadoras de antígenos, mas apresentam um comportamento clínico distinto (Dervisis et al. 2017).

O sarcoma histiocítico localizado (SHL) desenvolve-se a partir de um único local. É localmente invasivo e frequentemente metastiza para os linfonodos regionais (Affolter e Moore 2002). A maioria destas neoplasias tem origem no tecido subcutâneo, contudo, já foram observadas outras localizações primárias (Affolter e Moore 2002). Por outro lado, o sarcoma histiocítico disseminado (SHD) caracteriza-se por ser uma doença multissistêmica agressiva, com a presença de múltiplas massas tumorais em vários órgãos (Affolter e Moore 2002). Os primeiros órgãos afetados por norma são o baço, pulmão e medula óssea, com subsequente aparecimento de lesões secundárias nos linfonodos, fígado e outros órgãos (Affolter e Moore 2002). Assim, os locais mais comuns onde ocorrem infiltrações histiocíticas neoplásicas são a pele, tecido subcutâneo, tecido periarticular e articular, baço, fígado, pulmão, medula óssea e linfonodos e os menos comuns incluem o sistema nervoso ocular e central (Dervisis et al. 2017).

O sarcoma histiocítico foi primeiramente reconhecido em cães Boeiros de Berna. No entanto, atualmente considera-se que Rottweilers e Retrievers do Labrador também

apresentam alta prevalência para o aparecimento da doença (Rosin et al. 1986; Abadie et al. 2009). A idade média de início da doença é aos 6,5 anos, afetando igualmente machos e fêmeas (Abadie et al. 2009).

Os sinais clínicos costumam ser inespecíficos e incluem anorexia, perda de peso, letargia e hipertermia (Abadie et al. 2009; Meuten 2017). Ocasionalmente, a linfadenomegália pode ser o único sinal clínico presente e pode surgir distante das restantes lesões tumorais (Vail et al. 2020). O aparecimento de outros sinais depende dos órgãos afetados e da sua consequente destruição pelo tecido tumoral (Meuten 2017). É comum detetar-se auscultação pulmonar anormal com polipneia, sons pulmonares anormais, dispneia, taquipneia, discordância respiratória e tosse (Abadie et al. 2009). Por vezes, a auscultação cardíaca também apresenta alterações como taquicardia, arritmias e sons cardíacos abafados (Abadie et al. 2009). O envolvimento, primário ou secundário, do sistema nervoso central pode provocar convulsões, incoordenação e paralisia (Meuten 2017). No sarcoma histiocítico articular é comum observar-se claudicação (Meuten 2017).

O envolvimento da pele e tecido subcutâneo pode levar ao aparecimento de nódulos associados ou não a placas, frequentemente na zona do tórax, membros, cabeça, pescoço e abdómen (Abadie et al. 2009). As lesões cutâneas podem ser pruriginosas e, em alguns casos, apresentam ulceração (Abadie et al. 2009).

### **3.4.1. Diagnóstico**

Os cães com sarcoma histiocítico na altura do diagnóstico podem apresentar anemia não regenerativa, trombocitopenia, neutrofilia, monocitose e linfopenia (Abadie et al. 2009). As alterações mais comuns nas análises bioquímicas dos animais afectados são o aumento da alanina aminotransferase (ALT) e da fosfatase alcalina sérica (FAS), indicativos de distúrbios a nível do fígado (Abadie et al. 2009). Hipoalbuminemia e hipercolesterolemia são achados frequentes e, ocasionalmente, pode ocorrer hipercalcemia (Vail et al. 2020).

A ferritina é uma proteína de fase aguda e é a principal forma de ferro armazenado nas células, em especial nos hepatócitos e células de origem hematopoética (Friedrichs et al. 2010). Estudos realizados em 2010 por Friedrichs et al., revelaram que é comum surgir hiperferritinemia em cães com sarcoma histiocítico e que desta forma pode ser um marcador tumoral sérico útil para esta neoplasia. Contudo, este achado clínico também é documentado em cães com doenças inflamatórias, doenças hepáticas, anemia hemolítica imunomediada (AHIM) e linfoma. Segundo Friedrichs et al. (2010), a hiperferritinemia marcada (> 7,200 ng/mL) surge especialmente no sarcoma histiocítico e AHIM. Desconhece-se se o aumento de ferritina



resulta da sua síntese pelas células histiocitárias neoplásicas ou se é produzida por células normais em resposta à neoplasia, se resulta da destruição eritrocitária, lesão tecidual, dano hepatocelular ou de uma combinação de vários destes fatores (Friedrichs et al. 2010). É importante realçar que o aumento da ferritina acima do intervalo de referência por si só não deve ser visto como diagnóstico desta neoplasia.

O diagnóstico de sarcoma histiocítico pode ser feito através de exames citológicos ou histopatológicos de amostras de tecidos tumorais. Contudo, o diagnóstico definitivo de tumores pleomórficos pode ser desafiante visto terem características morfológicas semelhantes a tumores de células redondas ou carcinomas, sendo necessário recorrer a avaliação imunohistoquímica (Vail et al. 2020).

À necrópsia, os animais afetados podem apresentar massas destrutivas com uma superfície de corte lisa e com coloração creme esbranquiçada a mais escura (Moore 2014). É frequente observar-se esplenomegália, hepatomegália e linfadenomegália (Abadie et al. 2009). O envolvimento de múltiplos órgãos em simultâneo pode estar presente, sendo que nesses casos é mais frequente afetar o baço, seguido do pulmão e mediastino, fígado e linfonodos (fig.8 e 9) (Abadie et al. 2009).

Os sarcomas histiocíticos, localizado e disseminado, apresentam características morfológicas idênticas (Affolter e Moore 2002). Ocorrem massas tumorais invasivas e pouco delimitadas, compostas por uma densa população de células pleomórficas que destroem a arquitetura normal dos tecidos (Affolter e Moore 2002). As células tumorais histiocitárias caracterizam-se por serem grandes mononucleadas e apresentam frequentemente marcada anisocitose e anisocariose (fig.10) (Vail et al. 2020). O seu núcleo pode ser redondo, oval ou reniforme com nucléolo proeminente e citoplasma moderado a abundante, levemente basofílico e com vacúolos (Vail et al. 2020). É comum observarem-se numerosas figuras mitóticas e algumas células gigantes multinucleadas (Vail et al. 2020). Ocasionalmente, observa-se fagocitose de neutrófilos ou de fragmentos celulares pelas células tumorais (Affolter e Moore 2002). A presença de um infiltrado inflamatório leucocitário varia entre indivíduos e pode ir desde a existência de apenas algumas células dispersas a um infiltrado proeminente (fig.10 e 12) (Affolter e Moore 2002).

As células histiocitárias tumorais do SHL e SHD expressam um fenótipo idêntico, pois expressam moléculas de superfície de leucócitos características das células dendríticas intersticiais, que incluem CD1a, CD11c/CD18 e MHC II (Affolter e Moore 2002; Moore 2014; Meuten 2017). Em comparação com a histiocitose reativa, estas células não expressam CD4 (indicador da ativação das células dendríticas intersticiais) (Moore 2014). Uma vez que a expressão do marcador CD18 também pode ocorrer em

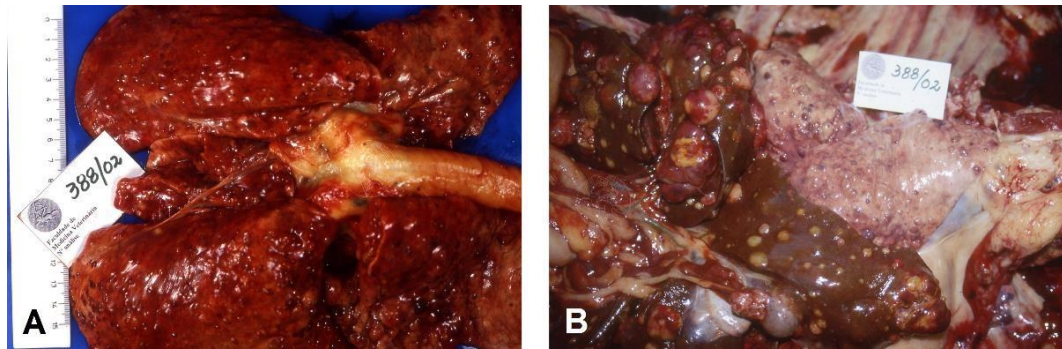
linfomas, é importante excluir a origem linfóide através da verificação de um resultado negativo para os marcadores CD3 e CD79a (Meuten 2017).

O marcador CD204 também pode ser útil no diagnóstico do sarcoma histiocítico e tem sido usado para avaliar amostras de tecidos FFEP e em citologia seca ao ar (Vail et al. 2020). Contudo, a sua expressão é variável e nem todas as células neoplásicas podem expressar este marcador numa dada lesão (Meuten 2017).

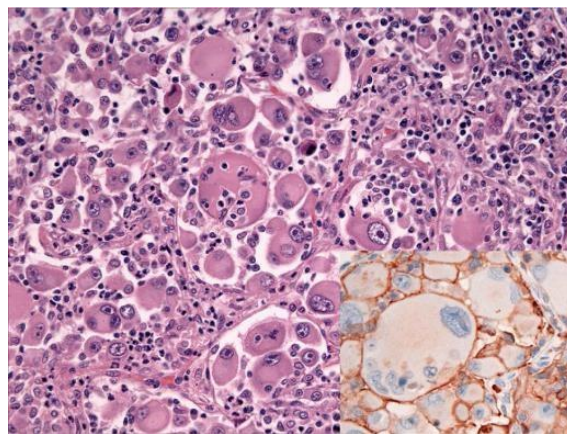
Visto ser uma neoplasia de carácter invasivo e elevado potencial metastático, é importante o estadiamento dos pacientes mediante exames imagiológicos (Daleck e Nardi 2016). É comum observar-se alterações nas radiografias torácicas e ecografia abdominal. O envolvimento pulmonar pode resultar num infiltrado celular intersticial difuso com áreas consolidadas irregulares ou lesões em massa, focais ou multifocais, afetando com mais frequência o lobo médio do pulmão direito (Vail et al. 2020). O lobo médio do pulmão direito é a localização pulmonar mais comum no SH e é frequente observar-se evidências radiográficas de broncogramas de ar (Vail et al. 2020). Também pode ser observada a presença de linfadenopatia esternal, mediastínica cranial e/ou traqueobrônquica (Vail et al. 2020). As imagens obtidas por ecografia podem revelar hepatosplenomegália, manchas, nódulos ou massas discretas no baço ou fígado (Vail et al. 2020).



**Figura 8- Sarcoma histiocítico disseminado num Rottweiler de 12 anos de idade.** Observam-se massas neoplásicas esplénicas de vários tamanhos e no canto esquerdo da imagem o fígado com nódulos dispersos. (FMV-UL, Anatomia Patológica Veterinária, MC Peleteiro. M Pinho & JS Orvalho et al. 26/05/2020)



**Figura 9- Metástases de sarcoma histiocítico canino.** A- Metástases pulmonares em forma de pequenos nódulos vermelho escuro; B- Metástases esplênicas com diferentes tamanhos e colorações. (FMV-UL, Anatomia Patológica Veterinária, MC Peleteiro. M Pinho & JS Orvalho et al. 26/05/2020)



**Figura 10- Observação ao microscópio óptico de sarcoma histiocítico canino pulmonar.** Observam-se células histiocíticas grandes e redondas, células uni- e multinucleadas com núcleo hiper cromático e nucléolo proeminente, que apresentam marcada anisocariose. Presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocítico e neutrofílico. Imagem do canto inferior direito- Os histiócitos neoplásicos expressam intensamente CD18, especialmente na membrana celular. (Meuten, Donald J., “*Tumors in Domestic Animals*”, 5ª Edição, p.328)

### 3.4.2. Tratamento e prognóstico

O sarcoma histiocítico canino tem uma evolução clínica agressiva e muitas vezes fatal (Skorupski et al. 2007). Por norma, se não for tratado pode levar à morte ou eutanásia do paciente poucos dias após o seu diagnóstico (Skorupski et al. 2007). A forma localizada da doença apresenta uma evolução clínica mais lenta (Vail et al. 2020).

No caso de SHL, o recurso a terapias locais como cirurgia e/ou radioterapia pode ser a melhor opção de tratamento. Contudo, aproximadamente 70 a 91% destes cães acaba por desenvolver metástases distantes nos pulmões, linfonodos ou órgãos abdominais (Skorupski et al. 2009). Estudos anteriores sugerem que o tratamento local por si só não é suficiente e que o uso de terapia sistémica adjuvante pode ser necessário (Skorupski et al. 2009). O uso de terapia local agressiva como a cirurgia ou cirurgia e radioterapia combinadas pode ser eficaz no controlo local do SHL.

No entanto, alguns cães podem vir a ter recidivas da doença e formação de metástases ou alterações hematológicas (Skorupski et al. 2009).

Animais com SHL na zona periarticular e que sofreram amputação para remoção cirúrgica do tumor, têm um tempo médio de sobrevivência (TMS) de 6 meses e a taxa metastática é cerca de 91% (Skorupski et al. 2009). Em 2009, Skorupski et al., realizaram um estudo para determinar o tempo de sobrevivência de cães com SHL que foram submetidos a cirurgia e a terapia adjuvante com 1- (2-cloroetil) -3-ciclohexil-1- nitrosourea (CCNU) e concluíram que o TMS destes animais foi cerca de 14 a 29 meses. A CCNU é um agente alquilante de nitrosourea de longa ação, também conhecido como lomustina, utilizado no tratamento do linfoma canino, tumores dos mastócitos e tumores intracranianos (Skorupski et al. 2007). Em suma, o tratamento de SHL com terapia local agressiva juntamente com quimioterapia com CCNU parece aumentar o TMS dos cães afetados, em comparação com o recurso a tratamentos únicos. Apesar disso, muitos pacientes continuaram em risco de poder desenvolver metástases ou a forma disseminada da doença.

No SHL, foi ainda possível concluir, a partir de um estudo realizado por Klahn et al. (2011), que o sarcoma histiocítico periarticular apresenta um prognóstico mais favorável do que aqueles localizados noutra zona anatómica, independentemente da presença de metástases. Em relação à terapia utilizada em cães com sarcoma histiocítico periarticular, o uso de quimioterapia ou tratamento multimodal agressivo apresenta resultados favoráveis. Este estudo revelou ainda que a administração concomitante de corticosteróides, como a prednisona, pode ser um fator negativo no prognóstico destes cães, porque aumenta o risco de progressão tumoral e morte. No mesmo estudo de Skorupski et al. em 2009, testaram ainda a resposta de vários cães com SHD à terapia local adjuvante com CCNU. Para testar a sua eficácia contra esta doença, foi administrada uma dose inicial de 70,8 mg/m<sup>2</sup> (60-90 mg/m<sup>2</sup>), com intervalos entre doses de 3 a 4 semanas e foi administrada uma média de 4 doses a cada cão. Alguns pacientes necessitaram de redução da dose ou atraso na administração por apresentarem um ou mais episódios de toxicidade. A mediana do tempo de duração da remissão da doença em cães que responderam ao tratamento foi de 85 dias e o TMS foi de 172 dias, contra o TMS de 60 dias em cães que não responderam ao tratamento. Desta forma, foi possível concluir que a CCNU apresenta resultados positivos no tratamento do SHD, com uma taxa de 46% de resposta em casos de doença mais avançada.

Dadas as taxas de resposta ao tratamento adjuvante com CCNU, à sua hepatotoxicidade e a baixa duração de resposta dos pacientes ao tratamento, foram estudadas outras possibilidades de combinação de outros agentes com a quimioterapia

com CCNU. Cannon et. al (2015), realizaram um estudo em que combinaram a administração de doxorrubicina à CCNU. Visto ambos os fármacos terem acção mielossupressora foi adotado um protocolo em que se administrou alternadamente cada medicamento em doses padrão a cada 2 semanas. Dados preliminares sugerem que a doxorrubicina e a lomustina são igualmente eficazes no tratamento do sarcoma histiocítico canino e, portanto, o protocolo da combinação destes dois fármacos pode ter maior intensidade de dose relativa que os protocolos de agente único. A taxa de resposta ao tratamento deste estudo por Cannon et al. (2015), variou entre os 29 e 56%, apresentou uma mediana do tempo de duração de remissão de 25 a 244 dias e um TMS de 106 a 980 dias. Em suma, a combinação destes dois fármacos foi bem tolerada e demonstrou ter eficácia na população em estudo.

Em 2018, Mason et al., estudaram o efeito da epirrubicina no tratamento adjuvante do sarcoma histiocítico canino. A epirrubicina pertence ao grupo das antraciclina tal como a doxorrubicina e é um estereoisómero semissintético desta, com o mesmo modo de ação e espectro de atividade. Contudo, difere da doxorrubicina a nível farmacocinético e metabólico, o que leva a que a epirrubicina tenha um tempo de semi-vida mais curto e seja excretada em maior quantidade, permitindo que seja administrada em doses mais altas que a doxorrubicina. A sua administração foi usada em cães com sarcoma histiocítico tratados com CCNU que não responderam ao tratamento inicial, que sofreram progressão da doença após resposta ao tratamento inicial ou que tiveram um aumento da ALT (5 vezes superior ao intervalo de referência) em consequência da hepatotoxicidade da lomustina. Foi testado um protocolo quimioterapêutico sequencial, alternado e de resgate. Os resultados obtidos foram melhores no protocolo alternado de lomustina e epirrubicina, com taxa de resposta de 29% e TMS de 185 dias (intervalo de 27 a 500 dias). À semelhança dos cães tratados com uma combinação de doxorrubicina e lomustina, estes também sofreram uma ligeira melhoria no tempo de sobrevivência quando tratados com lomustina e epirrubicina. Além disso, Mason et al. (2018) concluíram ainda que a epirrubicina também pode ser utilizada a curto prazo como agente único no tratamento de sarcoma histiocítico canino, em casos em que não se observa resposta à lomustina, com taxa de resposta de 19%.

A forma disseminada da doença apresenta um comportamento biológico mais agressivo, pelo que cães afetados com SHD à partida têm pior prognóstico que aqueles que são afetados por SHL (Dervisis et al. 2017). Segundo Dervisis et al. (2017), cães diagnosticados com SHD têm um TMS de 85 dias quando submetidos a tratamentos paliativos, enquanto que cães com SHL têm um TMS de 406 dias (Dervisis et al. 2017). A presença de anemia, trombocitopenia, hipoalbuminemia e envolvimento esplênico são alguns dos fatores associados a pior prognóstico (Skorupski et al. 2007; Abadie et al.

2009). Cães com anemia ou trombocitopénia têm um TMS inferior a 30 dias e cães com envolvimento esplénico têm um TMS de 58 dias (Skorupski et al. 2007).

### **3.5. Sarcoma Histiocítico Articular**

O sarcoma histiocítico articular (SHA) corresponde a uma das formas localizadas do sarcoma histiocítico e pode ocorrer adjacente e/ou dentro das articulações do esqueleto apendicular, denominando-se sarcoma histiocítico periarticular ou intra-articular, respetivamente (Meuten 2017). As articulações do joelho e do cotovelo são as mais afetadas (Meuten 2017).

Os tecidos periarticulares são o local mais frequente no desenvolvimento do sarcoma histiocítico e este aparenta ter um curso mais lento do que as outras formas localizadas da doença (Manor et al. 2018). O sarcoma histiocítico periarticular é o tumor mais comum que afeta as articulações nos cães e pode ser difícil a sua diferenciação de outras neoplasias articulares através do uso único de citologia ou histopatologia (Craig et al. 2002; Manor et al. 2018). A identificação da origem celular dos tumores sinoviais pode ser feita com recurso a imunohistoquímica, sendo que a marcação imunológica para CD18, citoqueratina e actina do músculo liso é recomendada na diferenciação entre sarcoma histiocítico periarticular e sarcoma de células sinoviais (Van Kuijk et al. 2013).

De acordo com Manor et al. (2018), cães Boieiros de Berna, Retriever de pêlo liso e Rottweilers apresentam maior predisposição para o aparecimento desta neoplasia. Outros potenciais factores de risco para o desenvolvimento desta doença inclui exposições ambientais, historial médico e história de doença ortopédica prévia.

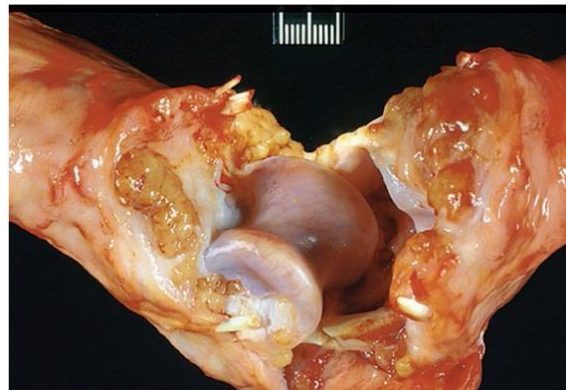
Num estudo retrospectivo realizado por Van Kuijk et al. em 2013 em cães Boieiros de Berna, a doença ortopédica foi identificada como um fator predisponente associado ao desenvolvimento de SHA. Nesse estudo concluiu-se que estes cães apresentam 5,4 vezes mais hipóteses de desenvolver a doença numa articulação anteriormente doente do que numa articulação saudável. Os cães Boieiros de Berna são considerados uma raça geneticamente predisposta para desenvolver tumores histiocíticos, pelo que, acredita-se que a combinação da inflamação nas membranas sinoviais das articulações, juntamente com doenças degenerativas crónicas e células da linhagem histiocítica geneticamente predispostas, resultem na formação do SHA.

Considera-se ainda que a associação de uma doença ortopédica prévia e o desenvolvimento de SHA também pode ser observada em Rottweilers (Craig et al. 2002). Num estudo realizado por Craig et al. (2002), 62% dos Rottweilers afetados pela doença tinham história prévia de rutura do ligamento cruzado cranial nas articulações afetadas pelos tumores.

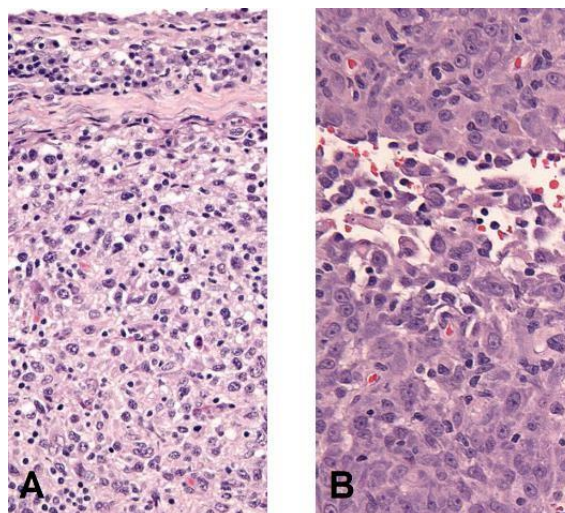


O SHA caracteriza-se pelo aparecimento de múltiplos nódulos localizados abaixo do revestimento sinovial, que se formam fora e/ou dentro da articulação (fig.11) (Meuten 2017). Microscopicamente, as lesões apresentam um padrão de crescimento nodular com coalescência e consequente formação de massas (Meuten 2017). Pode desenvolver-se sinovite em consequência da rutura do ligamento cruzado cranial no SHA (Meuten 2017). Respetivamente às características histológicas e imunofenotípicas o SHA é semelhante ao sarcoma histiocítico noutras localizações anatómicas (fig.12) (Meuten 2017).

Por apresentar uma evolução mais lenta que as restantes formas de SHL, o SHA apresenta melhor prognóstico se for tratado precocemente por excisão cirúrgica definitiva, radioterapia ou uma combinação de ambas e ainda com quimioterapia adjuvante ao tratamento (Van Kuijk et al. 2013).



**Figura 11-Sarcoma histiocítico articular canino.** Presença de nódulos periarticulares e intra-articulares que coalescem na zona anterior da articulação tibiotársica. (Meuten, Donald J., “*Tumors in Domestic Animals*”, 5ª Edição, p.330)



**Figura 12-Observação microscópica de sarcoma histiocítico articular canino.** A- Corte transversal. A sinóvia permanece intacta acima do tumor e é separada por tecido conjuntivo. As células histiocíticas neoplásicas estão intercaladas com infiltração inflamatória linfoplasmocítica

moderada. B- O tumor é composto por células fusiformes. (Meuten, Donald J., “*Tumors in Domestic Animals*”, 5ª Edição, p.330-331)

### **3.6. Sarcoma Histiocítico do Sistema Nervoso Central**

O sarcoma histiocítico no sistema nervoso central (SNC) pode ser primário ou resultar de metástases do SHD (Mariani et al. 2015). Um estudo realizado em 2015 por Mariani et al., mostrou que Pembroke Welsh Corgi foi a raça com mais casos de sarcoma histiocítico com envolvimento primário do SNC, embora esta não seja considerada uma raça predisposta ao aparecimento daquele tumor. Por outro lado, cães Retrievers foram os únicos casos referidos que apresentaram SHD com envolvimento secundário do SNC. É frequente estes cães manifestarem sinais clínicos como convulsões, incoordenação e paralisia (Daleck e Nardi 2016).

O sarcoma histiocítico tem origem em células dendríticas e estas por sua vez estão restritas às meninges e ao plexo coróide, mas não ao cérebro (Meuten 2017). Desta forma, o sarcoma histiocítico do SNC pode desenvolver-se através da população residente de células dendríticas intersticiais (Moore 2014). Estes tumores em geral têm origem nas leptomeninges e, conseqüentemente, estendem-se ao cérebro (Meuten 2017). As lesões são geralmente focais, apresentando-se como massas solitárias subdurais e, menos comumente, caracterizam-se por um infiltrado difuso nas meninges (fig.13) (Moore 2014; Meuten 2017). Os sarcomas histiocíticos primários do SNC não desenvolvem metástases extracranianas. No entanto, é possível que ocorram metástases no SNC como consequência de sarcomas histiocíticos extracranianos (Meuten 2017).

O sarcoma histiocítico do SNC primário caracteriza-se frequentemente por massas extra-axiais e uniformemente contrastantes na ressonância magnética (Toyoda et al. 2020). A diferenciação destes tumores de tumores extra-axiais mais comuns, como o meningioma, pode ser difícil com base apenas nos achados imagiográficos (Toyoda et al. 2020).

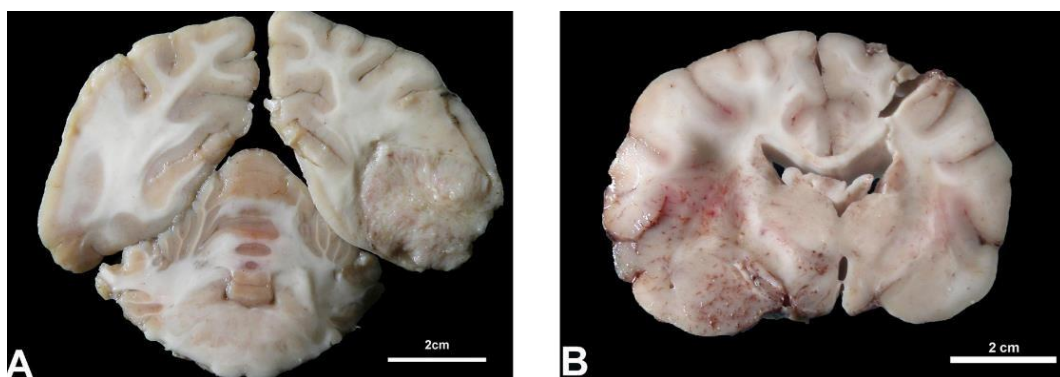
O sarcoma histiocítico do SNC parece diferir do sarcoma histiocítico nos restantes órgãos relativamente à intensidade do infiltrado inflamatório. No entanto, não é claro se esse comportamento inflamatório é comum a todos os sarcomas histiocíticos que envolvem o SNC ou está restrito à doença primária (Toyoda et al. 2020).

Microscopicamente, as lesões são compostas por um grande número de células inflamatórias (linfócitos, neutrófilos, histiócitos e plasmócitos) e histiócitos atípicos (Moore 2014). A avaliação do líquido cefalorraquidiano (LCR) destes cães revela pleocitose e aumento da concentração de proteína, o que reflete a componente inflamatória da doença e contrasta com a maioria de outros tumores primários do SNC,



nos quais o número de células inflamatórias é moderado (Mariani et al. 2015; Toyoda et al. 2020).

A nível terapêutico pode ser feita a remoção do tecido neoplásico, radioterapia, quimioterapia com lomustina e tratamento paliativo com glucocorticóides, anticonvulsiantes e outros medicamentos (Mariani et al. 2015). Contudo, cães com sarcoma histiocítico com envolvimento do SNC que apresentam sinais neurológicos têm mau prognóstico (Mariani et al. 2015; Toyoda et al. 2020). Segundo Toyoda et al. (2020), o TMS destes cães é de 4 dias, tendo sido registado apenas um caso de sarcoma histiocítico do SNC primário, em que o tempo de sobrevivência do paciente foi superior a 8 meses após cirurgia e quimioterapia com lomustina.



**Figura 13- Metástases no SNC de sarcoma histiocítico canino.** A - Neoplasia nodular esbranquiçada focal no telencéfalo. B - Múltiplas áreas avermelhadas que envolvem o lobo piriforme e a substância branca. (Scielo, “Pathological features of 78 metastatic or multicentric neoplasms involving the central nervous system in dogs” a 26/05/2020)

### 3.7. Sarcoma Histiocítico Hemofagocítico

O sarcoma histiocítico hemofagocítico (SHH) é uma variante do sarcoma histiocítico e é, atualmente, o único distúrbio histiocítico em cães que tem origem em macrófagos (Vail et al. 2020). Apresenta um curso clínico muito agressivo e as raças mais predispostas ao seu aparecimento são as mesmas que no SHL e SHD (Moore et al. 2006). Alguns estudos demonstram que não existe predisposição sexual e que a idade dos animais acometidos varia entre 2,5 e 13 anos (Moore et al. 2006). Por norma, animais com SHH apresentam história clínica de letargia, inapetência, perda de peso e mucosas pálidas (Moore et al. 2006).

O SHH inicialmente envolve o baço e a medula óssea e mais tarde pode estender-se para o fígado e pulmões por via intravascular (Moore et al. 2006). As suas lesões caracterizam-se essencialmente por esplenomegália difusa e pela ausência de grandes nódulos visíveis (<1-2mm) nos locais de metastização, como fígado e pulmão (Moore 2014).

### 3.7.1. Diagnóstico

Os achados hematológicos mais comuns em cães com SHH incluem anemia hemolítica regenerativa (marcada a moderada), trombocitopênia, hipoalbuminemia e hipocolesterolemia (Moore et al. 2006). Pode ainda existir leve hiperbilirrubinemia sem icterícia na apresentação inicial (Moore 2014). Esta apresentação clínica pode ser facilmente confundida com AHIM e trombocitopênia (Síndrome de Evans). Porém os testes de anticorpos eritrocitários (Coombs) são negativos (Moore et al. 2006; Meuten 2017). Além dos achados clínicos descritos, é comum a ocorrência de alterações hemostáticas como o prolongamento do tempo de tromboplastina parcial (TTP) (Moore et al. 2006).

As lesões macroscópicas são mais prevalentes no baço e fígado (Moore et al. 2006). Na necrópsia é comum observar-se esplenomegália difusa, com poucas a várias massas nodulares mal definidas, de coloração vermelha a acastanhada com 3 a 5 cm de diâmetro (fig.14) (Moore et al. 2006; Meuten 2017). Na cápsula esplênica também podem estar presentes enfartos esplênicos verdes-acastanhados a brancos (Moore et al. 2006). O fígado pode apresentar aumento difuso, superfície capsular irregular, coloração avermelhada a acastanhada e padrão reticular proeminente (Moore et al. 2006). A nível pulmonar podem surgir numerosos nódulos brancos com diâmetro máximo de 2 mm de diâmetro, distribuídos aleatoriamente (Moore et al. 2006).

O exame histopatológico revela a presença de infiltrado difuso de histiócitos na polpa vermelha esplênica, com marcada eritrofagocitose, acompanhado de focos de hematopoiese extramedular, trombos e enfartos (Moore et al. 2006; Meuten 2017). É frequente ocorrer envolvimento simultâneo da medula óssea e aí também pode estar presente eritrofagocitose (Meuten 2017). A invasão dos sinusóides esplênicos da polpa vermelha indica invasão dos sinusóides hepáticos (Meuten 2017). Nos estágios iniciais, as metástases hepáticas não são facilmente identificadas a nível macroscópico e histológico, porque o infiltrado de histiócitos ao longo dos sinusóides hepáticos não forma grandes massas (Meuten 2017). A invasão intravascular do fígado ocorre através da veia porta, observando-se histiócitos atípicos no lume dos ramos da veia porta, muitos com eritrofagocitose (Moore et al. 2006). Mais raramente, pode ocorrer invasão dos linfonodos, especialmente daqueles que drenam os órgãos mais afetados pelo SHH, que inclui os linfonodos traqueobrônquicos, mediastínicos, esternais e abdominais (Moore et al. 2006).

A avaliação citológica dos aspirados de baço e medula óssea de animais com SHH pode revelar histiócitos bem diferenciados, especialmente na medula óssea (Moore 2014). No entanto, mesmo as células bem diferenciadas apresentam um comportamento agressivo, como se evidencia pela invasão da vasculatura hepática e

pulmonar (Moore 2014). Geralmente há mais atipia celular no baço do que na medula óssea; os histiócitos esplênicos podem apresentar características morfológicas normais e, ocasionalmente, pode-se observar anisocitose, anisocariose e núcleos hipercromáticos (Moore et al. 2006; Moore 2014). Esporadicamente, podem estar presentes células gigantes multinucleadas misturadas com os histiócitos mononucleares bem diferenciados e observam-se várias figuras mitóticas (Moore et al. 2006). O citoplasma dos histiócitos é abundante, eosinofílico e na maioria das vezes bastante vacuolizado (Moore et al. 2006). O núcleo apresenta-se com forma redonda, ovóide e, ocasionalmente, pode ter forma irregular (Moore et al. 2006).

As células dendríticas intersticiais expressam CD11c/CD18 e os macrófagos expressam CD11b/CD18 (células de Kupffer, micróglia e células sinoviais do tipo A), no entanto, os macrófagos provenientes de órgãos hematopoiéticos, como os que dão origem ao SHH, expressam moléculas CD11d/CD18 (Daleck e Nardi 2016). Desta forma, no SHH o padrão de marcação da  $\beta$ 2-integrina é particularmente valioso na classificação da linhagem dos histiócitos e na identificação da sua origem tecidular (Moore et al. 2006). Assim, no SHH canino os histiócitos neoplásicos de tecidos FFEP expressam CD11d, CD18, MHC II e CD204 (Moore et al. 2006; Meuten 2017). A expressão de CD1a, frequente nos distúrbios histiocíticos de células dendríticas apresentadoras de antígenos, normalmente é fraca ou ausente no SHH, uma vez que a principal função dos macrófagos que dão origem a esta doença é a fagocitose e não a apresentação antigénica (Moore et al. 2006; Daleck e Nardi 2016).



**Figura 14- Comparação da apresentação das lesões esplênicas no sarcoma histiocítico disseminado e no sarcoma histiocítico hemofagocítico.** Na imagem de cima observa-se formação de múltiplas massas, características do sarcoma histiocítico com origem em células dendríticas intersticiais. Na imagem de baixo observa-se esplenomegália difusa com formação de massas mal definidas, características do sarcoma histiocítico hemofagocítico com origem em macrófagos. (Meuten, Donald J., “*Tumors in Domestic Animals*”, 5ª Edição, p.328)

### **3.7.2. Tratamento e Prognóstico**

Até à data não está descrito nenhum tratamento efetivo para o SHH (Vail et al. 2020). Os tempos de sobrevivência nestes animais são extremamente curtos, variando de 1 a 2 meses, independentemente do uso de terapêutica (Daleck e Nardi 2016; Vail et al. 2020). O SHH apresenta pior prognóstico relativamente aos restantes distúrbios histiocíticos caninos, devido ao desenvolvimento de anemia grave e coagulopatias (Daleck e Nardi 2016).

## **4. Doenças Histiocíticas Caninas: Estudo de Casos**

### **4.1. Objetivos do Estudo**

O objetivo deste estudo foi caracterizar as doenças histiocíticas caninas e comparar a bibliografia com os dados obtidos numa amostra da população canina observada durante o estágio curricular no Hospital Veterinário de Aveiro (HVA). Para tal, foram delineados os seguintes objetivos: i) revisão bibliográfica das doenças histiocíticas caninas; ii) desenvolvimento de uma análise descritiva dos 7 casos clínicos observados; iii) comparação dos dados obtidos com a bibliografia atualmente disponível. Os dados apresentados nesta dissertação poderão contribuir para uma melhor compreensão da prevalência das diferentes doenças histiocíticas caninas, das diferenças na apresentação clínica e comportamental dessas doenças, assim como das dificuldades no diagnóstico e tratamento que atualmente se enfrentam na prática da clínica veterinária.

### **4.2. Materiais e Métodos**

#### **4.2.1. Seleção de casos**

O presente estudo incluiu uma amostra de 7 cães seguidos no HVA, durante um período de um ano, entre fevereiro de 2019 e fevereiro de 2020. A amostra do estudo foi constituída por cães com diagnóstico de doença histiocítica confirmada através de exame físico, citológico, histopatológico, imunohistoquímico e/ou imagiológico. Foram avaliados parâmetros clínicos e imagiológicos, assim como, tratamento e prognóstico de cada paciente.

#### **4.2.2. Critérios de inclusão na amostra**

Foram incluídos no presente estudo cães com diagnóstico de doença histiocítica. Como critérios de inclusão foram ainda considerados cães cujo diagnóstico inicial foi

alterado após prova imunohistoquímica e cujo resultado comprovou a existência de doença histiocítica.

#### **4.2.3. Critérios de exclusão na amostra**

Como critérios de exclusão consideram-se todos os cães observados no período em estudo cuja patologia não esteve associada a doença histiocítica.

#### **4.2.4. Revisão dos registos clínicos**

Os registos médicos foram recuperados através do Software Pet Universal® e Qvet®, e ainda, através da colaboração dos profissionais do HVA e do Laboratório Veterinário Inno. A informação recolhida incluiu dados epidemiológicos, anamnese, exames laboratoriais como hemograma, provas bioquímicas, análises citológicas e histopatológicas, técnica de imunohistoquímica, TC, ecografias e radiografias, e ainda, tratamento médico e cirúrgico de cada animal incluído na amostra.

#### **4.2.5. Epidemiologia e história clínica**

A população da amostra foi caracterizada pela idade, género, raça, sinais clínicos, tipo de doença histiocítica e datas de diagnóstico. Para além disso, foi avaliado o historial clínico do doente, resultados dos exames realizados, e ainda a resposta ao tratamento.

#### **4.2.6. Apresentação de resultados e análise estatística**

A análise estatística descritiva foi realizada utilizando o Software *Microsoft Office Excel* 2013® e o programa SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences*, IBM Corporation, Chicago, EUA) versão 26 para *Windows*. Os resultados estão apresentados como frequência absoluta, frequência relativa e média  $\pm$  desvio-padrão para um número  $n$  de amostras colhidas.

### **4.3. Resultados**

#### **4.3.1. Caracterização fenotípica da amostra populacional**

A amostra populacional deste trabalho foi constituída por 7 cães que cumpriam os critérios de inclusão designados (tabela 2), sendo o grupo heterogéneo representado por diferentes raças e géneros, com idades compreendidas entre os 1 e 9 anos de idade ( $5,43 \pm 3,26$ ). Relativamente ao género, foi observado que, dos 7 casos, as fêmeas constituíram a maioria da amostra ( $n=4$ ) quando comparado com os machos ( $n=3$ ). A média de idades das fêmeas foi de 5,75 anos e dos machos 5 anos. No presente estudo

estiveram representadas 6 raças, das quais Rottweiler ( $n=2$ ), Labrador ( $n=1$ ), Boxer ( $n=1$ ), Pitbull ( $n=1$ ), Bulldog Francês ( $n=1$ ) e Cocker Spaniel ( $n=1$ ). Considerando as diferentes doenças histiocíticas, no histiocitoma cutâneo a média de idades foi 3,75 anos ( $n=4$ ) e no sarcoma histiocítico (SH) 7,6 anos ( $n=3$ ).

**Tabela 2- Caracterização da amostra populacional de cães com doenças histiocíticas**

<b>Cães</b>	<b>Raça</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Doença Histiocítica</b>
<b>1</b>	Labrador Retriever	Macho	9	Sarcoma Histiocítico
<b>2</b>	Rottweiler	Fêmea	9	Sarcoma Histiocítico
<b>3</b>	Rottweiler	Fêmea	5	Sarcoma Histiocítico
<b>4</b>	Pitbull	Fêmea	8	Histiocitoma Cutâneo
<b>5</b>	Bulldog Francês	Macho	3	Histiocitoma Cutâneo
<b>6</b>	Cocker Spaniel	Fêmea	1	Histiocitoma Cutâneo
<b>7</b>	Boxer	Macho	3	Histiocitoma Cutâneo

#### **4.3.2. Sinais clínicos e exame físico**

Relativamente ao exame físico e sinais clínicos que motivaram a ida dos tutores à consulta (tabelas 3 e 4), a presença de nódulos cutâneos únicos ou múltiplos ( $n=5$ ; 41,7 %) foi um dos sinais mais comuns. A anorexia ( $n=2$ ; 16,7%), desconforto abdominal ( $n=2$ ; 16,7%), prostração ( $n=1$ ; 8,3%), hipertermia ( $n=1$ ; 8,3%) e piodermatite ( $n=1$ ; 8,3%) foram os sinais clínicos mais representativos no restante da amostra (tabela 3).

Nos quatro cães diagnosticados com histiocitoma cutâneo o único sinal clínico observado foi a presença de um só nódulo cutâneo ( $n=4$ ; 100%), enquanto que, nos cães com SH a anorexia ( $n=2$ ; 66,6%) e desconforto abdominal ( $n=2$ ; 66,6%) foram os mais frequentes (gráfico 1).

Ao exame físico, os cães com lesões características de histiocitomas, apresentaram nódulos únicos no mento, na face interna do pavilhão auricular e nos membro posteriores direito e esquerdo, ao nível da crista da tíbia e do calcâneo respetivamente, sendo os membros posteriores ( $n=2$ ; 50%) o local mais afetado. Os nódulos cutâneos tinham entre 0,5 cm e 1,2 cm de diâmetro e caracterizavam-se por serem bem delimitados, firmes, alopecicos, não dolorosos, sem sinal de prurido e, por vezes, hemorrágicos ou ulcerados (gráfico 2).

**Tabela 3- Frequências relativas dos sinais clínicos observados na amostra em estudo**

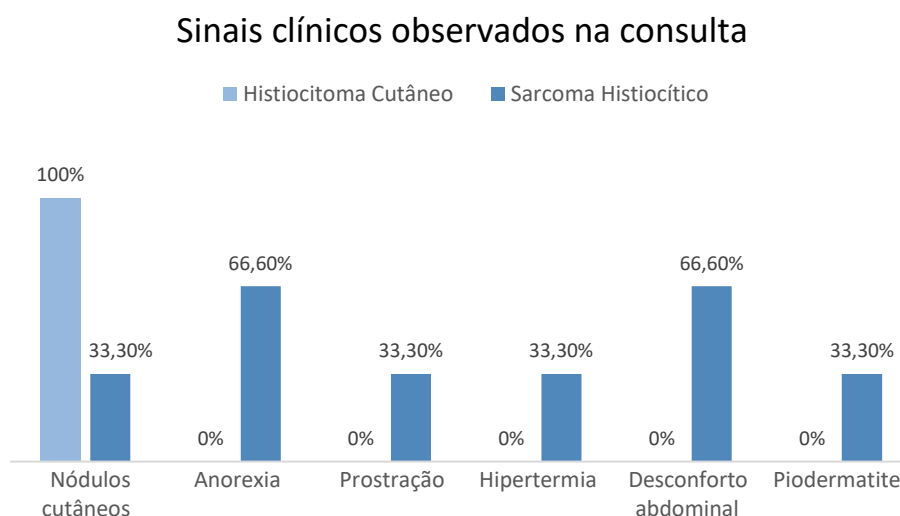
		Respostas		Percentagem de casos
		N	Percentagem	
Sinais Clínicos <sup>a</sup>	Nódulos Cutâneos	5	41,7%	71,4%
	Anorexia	2	16,7%	28,6%
	Desconforto Abdominal	2	16,7%	28,6%
	Prostração	1	8,3%	14,3%
	Hipertermia	1	8,3%	14,3%
	Piodermatite	1	8,3%	14,3%
Total		12	100,0%	171,4%

a. Grupo de dicotomia tabulado no valor 1.

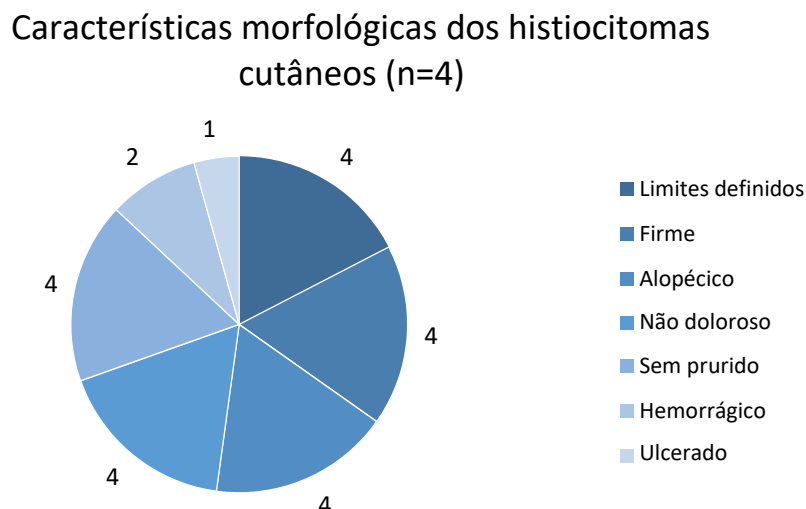
**Tabela 4- Sinais clínicos observados na consulta dos sete cães da amostra em estudo**

Cão	Sinais clínicos observados na consulta					
	Nódulos cutâneos	Anorexia	Prostração	Hipertermia	Desconforto abdominal	Piodermatite
1	x					x
2		x			x	
3		x	x	x	x	
4	x					
5	x					
6	x					
7	x					

**Gráfico 1- Frequências relativas dos sinais clínicos que motivaram a ida à consulta em cães com histiocitoma cutâneo e sarcoma histiocítico**



**Gráfico 2- Características morfológicas observadas nas consultas dos quatro casos de histiocitomas cutâneos**



### 4.3.3. Exames complementares

#### 4.3.3.1. Análises hematológicas e bioquímicas séricas

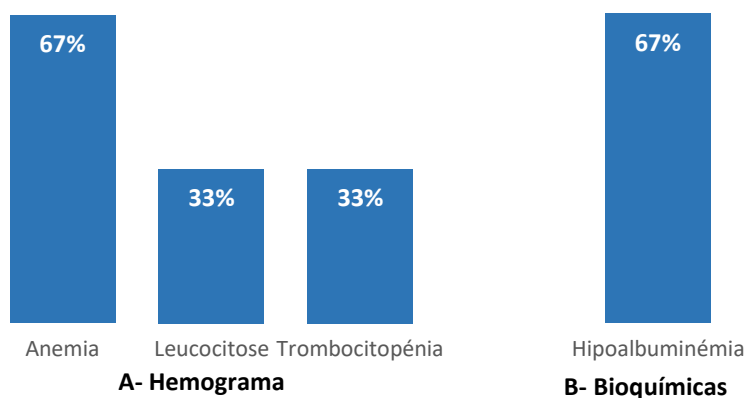
Foram realizadas análises clínicas aos animais que se apresentaram à consulta com alterações significativas, como anorexia, prostração e hipertermia. Estas alterações foram apenas observadas nos pacientes com SH (gráfico 1). Os resultados obtidos no hemograma desses pacientes mostraram que a anemia ( $n=2$ ; 66,6%) foi a alteração mais observada, sendo que leucocitose ( $n=1$ ; 33,3%) e trombocitopenia ( $n=1$ ; 33,3%) foram alterações igualmente presentes (gráfico 3A). Realizou-se ainda um painel bioquímico de albumina, ALT, FAS, ureia, creatinina e glucose onde se constatou que hipoalbuminemia ( $n=2$ ; 66,6%) foi a única alteração presente (gráfico 3B).

O cão 1, no dia da consulta, não apresentava alterações clínicas. No cão 2, a única alteração presente no hemograma foi anemia regenerativa microcítica normocrômica enquanto que nas provas bioquímicas, observou-se ligeira hipoalbuminemia (2,5 g/dl). O cão 3 revelou leucocitose por granulocitose, anemia regenerativa normocítica e normocrômica e hipoalbuminemia (2,1 g/dl).



**Gráfico 3- Frequências relativas das alterações observadas no dia da primeira consulta no hemograma (A) e nas análises bioquímicas (B) em cães diagnosticados com sarcoma histiocítico.**

#### Alterações nas análises clínicas dos cães com Sarcoma Histiocítico



#### 4.3.3.2. Técnica citológica e histopatológica

Nos cães 6 e 7 foram realizadas colheitas de amostras dos nódulos cutâneos e subcutâneos, utilizando a técnica de punção aspirativa com agulha fina (PAAF), enquanto que nos cães 4 e 5, a colheita foi feita através de citologia por aposição. Posteriormente, as amostras foram enviadas para laboratório.

Nestes cães, o diagnóstico citológico foi sugestivo de neoplasia de células redondas compatível com histiocitoma cutâneo. Contudo, no cão 5 o resultado citológico foi inconclusivo, devido à fraca celularidade presente no material colhido. Foi realizada uma segunda colheita por exérese do nódulo no mento e envio para histopatologia. Ao exame microscópico observou-se células redondas com quantidade moderada de citoplasma ligeiramente acidófilo e núcleos redondos a reniformes. Na periferia da lesão era visível um discreto infiltrado linfoplasmocitário e imagens de foliculite e furunculose. O diagnóstico histológico teve como conclusão a presença de histiocitoma cutâneo.

No cão 1, realizou-se a PAAF aos múltiplos nódulos cutâneos e subcutâneos no membro posterior esquerdo e ao linfonodo poplíteo esquerdo. Além disso, foi feita a colheita por biópsia de dois nódulos, obtendo-se dois fragmentos com 0,5 cm de diâmetro para análise histopatológica. Nos fragmentos enviados identificou-se lesão neoplásica localizada subjacente à derme folicular, de comportamento infiltrativo, em que não foi possível avaliar-se pelas margens, dado as lesões não terem sido enviadas na sua totalidade. O quadro citológico foi sugestivo da presença de uma neoplasia de células redondas, compatível com mastocitoma. No entanto, o relatório histopatológico

revelou a presença de uma população celular de fenótipo redondo a ovalado, organizada num padrão sólido em toalha, por entre eosinófilos e agregados de tecido conjuntivo exibindo colagenólise. As células neoplásicas observadas eram de grandes dimensões, de núcleos claros, redondos, ovóides a indentados e evidenciavam anisocitose e anisocariose, por vezes marcada. Os nucléolos visíveis eram múltiplos e com formas irregulares e o citoplasma claro e de limites indistintos. Observaram-se até quatro a cinco figuras de mitose por campo de grande ampliação, identificando-se formas atípicas e também figuras de apoptose. Visto que o grau de baixa diferenciação das células presentes não permitiu a identificação clara da histiogénese da amostra, o laboratório aconselhou a realização de prova imunohistoquímica para classificação da neoplasia.

O cão 2 tinha uma massa ulcerativa no cotovelo esquerdo, que não apresentava sinais de resolução (fig.15A). Mais tarde, a massa do cotovelo evoluiu e apresentava aspeto de lesão crónica, tipo couve-flor (figura 15B). Nessa altura, apesar de ser uma zona anatómica de difícil cicatrização, procedeu-se à biópsia da massa e envio de amostras para histopatologia. O resultado histopatológico revelou que a amostra era composta por epiderme fina com zonas de hiperplasia e extensos focos de ulceração. Na derme, observou-se proliferação de células fusiformes, com marcada atipia e anisocariose, pleomórficas, que se dispunham em feixes. Notavam-se mitoses frequentes e atípicas. Era ainda visível hemorragia e focos de abcedação intra-lesionais. Considerou-se que se estava perante uma neoplasia maligna pouco diferenciada e de elevado grau histológico. A principal suspeita foi de SH, admitindo poder tratar-se de outro tipo de sarcoma indiferenciado. Para proceder à distinção dos diferentes fenótipos, nomeadamente o histiocítico, seria necessário recorrer a marcação imunohistoquímica com Iba-1 ou CD18.

No cão 3, no seguimento de esplenectomia, foi enviada para laboratório uma amostra de baço com uma massa visível de 12 cm de diâmetro, constituída por tecidos avermelhados e esbranquiçados friáveis. Ao exame microscópico observou-se necrose intra-lesional e fenómenos de congestão e hiperplasia da polpa branca. Eram visíveis zonas de neoformação constituídas por células grandes de citoplasma acidófilo, com núcleos de grandes dimensões, ovais e outros reniformes. Observou-se ainda células bizarras e atividade mitótica moderada. As células estavam dispostas em toalha difusa, e por vezes, em feixes. Segundo o relatório histopatológico, a imagem histológica é sugestiva da presença de um sarcoma, de aparente origem histiocítica, sendo necessário recorrer a marcadores imunohistoquímicos para confirmação da natureza do tumor.



**Figura 15- Evolução da ferida do cotovelo esquerdo do cão 2.** A - Presença de massa ulcerada na zona inferior do cotovelo; B - Massa com aspeto de lesão crónica, tipo couve-flor. Imagens A e B captadas com 9 dias de intervalo.

#### **4.3.3.3. Técnica de imunohistoquímica**

A técnica de imunohistoquímica foi realizada apenas nos cães 1 e 3, visto que os relatórios histopatológicos não foram suficientes para confirmação da natureza do tumor (tabela 5). No cão 2, foi aconselhado a realização da prova imunohistoquímica, contudo, por motivo de contenção de custos e prognóstico visivelmente desfavorável, os tutores não consentiram a sua realização.

No cão 1, foi efetuado o exame imunohistoquímico com os anticorpos anti-vimentina e anti-CD18, tendo sido observada marcação citoplasmática na totalidade das células neoplásicas para o anticorpo anti-vimentina e marcação citoplasmática/membranar em cerca de 50% das células neoplásicas para o anticorpo anti-CD18. Segundo o laboratório, estes achados imunohistoquímicos são compatíveis com SH.

No cão 3, foi utilizada a técnica de imunohistoquímica com anticorpo anti-Iba-1. Observou-se positividade da membrana e citoplasma na população celular, de morfologia fibro-histiocítica, confirmando-se deste modo o diagnóstico de SH.

**Tabela 5- Marcadores imunohistoquímicos utilizados no diagnóstico de sarcoma histiocítico nos cães 1 e 3**

<b>Cão</b>	<b>Marcador</b>	<b>Função</b>	<b>Diagnóstico</b>
<b>1</b>	Anti-vimentina	Marcador de células de origem mesenquimatosa (sarcomas)	Sarcoma Histiocítico
	Anti-CD18	Molécula de adesão celular dos leucócitos, expressa com forte intensidade nos macrófagos	
<b>3</b>	Anti-Iba-1	Medeia os sinais de cálcio nas linhagens celulares monocíticas e histiocíticas	Sarcoma Histiocítico

#### **4.3.3.4. Exame imagiológico**

A realização de radiografia, ecografia e TC foi realizada, na maioria dos casos, por suspeita de anomalias nos órgãos internos que justificassem as alterações observadas ao exame físico, hemograma e/ou painel bioquímico.

##### **4.3.3.4.1. Radiografia**

Foram realizadas radiografias torácicas laterais e ventro dorsais nos cães 1, 2 e 3 para investigar a existência de massas ou metástases pulmonares. Não foram detectadas metástases em nenhum dos casos, não se descartando, no entanto, a possibilidade da sua existência.

##### **4.3.3.4.2. Ecografia Abdominal**

No cão 1, enquanto realizava o tratamento de quimioterapia, foi feito hemograma de controlo prévio, e ainda, radiografia torácica e ecografia abdominal para descartar a existência de metástases. Num desses controlos observou-se a existência de um nódulo no baço e uma massa caudal à bexiga. No espaço de duas semanas observou-se que as massas apresentavam um rápido crescimento.

Ao exame físico, o cão 2 apresentava abdómen ligeiramente tenso mas muito doloroso. A ecografia abdominal revelou a presença de uma massa esplénica irregular. Por motivos económicos não foi realizada esplenectomia, tendo sido, no entanto, recomendada monitorização ecográfica da massa passados três meses.

O cão 3 apresentava desconforto abdominal na consulta pelo que foi indicada a realização de ecografia abdominal. À ecografia observou-se a existência de uma massa esplénica de grandes dimensões (11 cm por 11 cm) e ausência de nódulos aparentes no fígado. Aproximadamente dois meses após o diagnóstico, realizou ecografia de controlo por apresentar alterações graves no hemograma, assim como anorexia, vómitos e prostração. Na ecografia abdominal evidenciou-se a presença de metástases hepáticas

e efusão abdominal. A citologia da efusão abdominal revelou exsudado asséptico com células neoplásicas.

#### **4.3.3.4.3. Tomografia Computorizada**

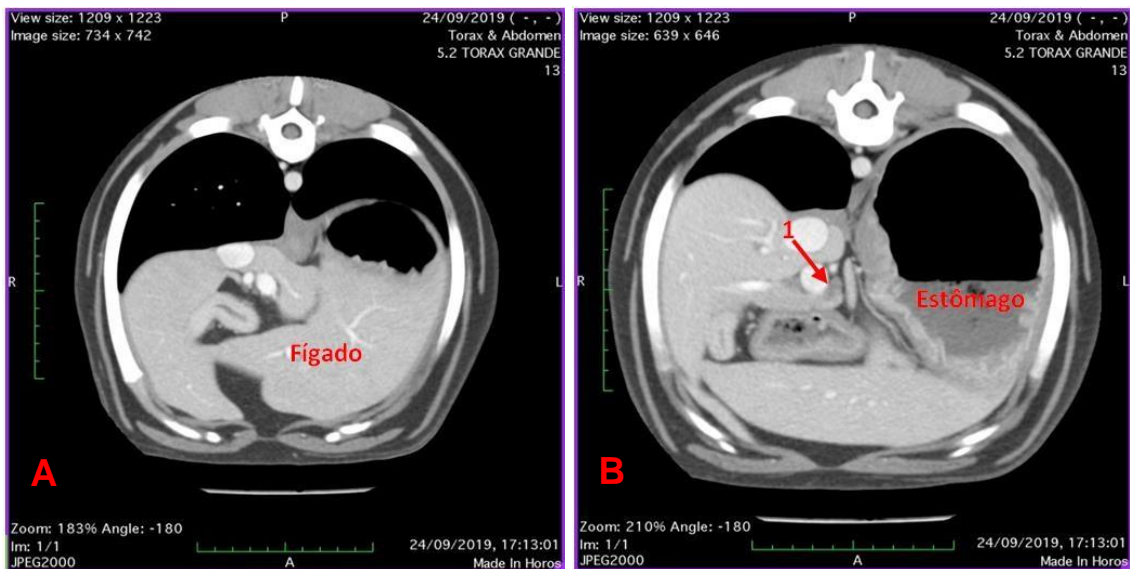
No cão 3 foi feito estudo em aquisição helicoidal da cavidade abdominal, com cortes de 5 mm em algoritmo de osso e tecidos moles na série simples e com cortes de 3 mm após administração de contraste iodado endovenoso, com injetor automático. Foi ainda realizada a aquisição helicoidal da cavidade torácica, com cortes de 3 mm em algoritmo de pulmão, osso e tecidos moles. Durante a aquisição da cavidade torácica foi feita apneia momentânea para diminuição de artefacto de movimento.

Na interpretação diagnóstica da cavidade torácica, o mediastino não tinha evidências de alterações, evidenciando normal conformação dos linfonodos esternalis, mediastínicos e traqueobrônquicos. Observou-se anatomia normal dos grandes vasos e o esófago apresentava-se fisiologicamente colapsado. O parênquima pulmonar estava íntegro, evidenciando a permanência das extensões brônquicas, bem como correta vascularização pulmonar, não se tendo verificado quaisquer tipos de lesão neoplásica e/ou inflamatória/infeciosa.

Na TC da cavidade abdominal, o fígado apresentava-se normodimensionado, de limites bem definidos e parênquima homogéneo, não se identificando estruturas nodulares ou em massa nas séries simples ou contrastadas (figura 16A). A vesícula biliar apresentava-se normodimensionada e homogénea sem sinais da presença de sedimento e/ou cálculos biliares. O pâncreas encontrava-se normodimensionado e maioritariamente homogéneo, verificando-se a presença de uma estrutura nodular, localizada no corpo do pâncreas, de aproximadamente 1,2 cm no seu eixo maior, de limites bem definidos (figura 16B). O nódulo não exibiu captação de contraste, não sendo também observado efeito de massa significativo, sendo compatível com lesão quística benigna, não se descartando, no entanto, poder tratar-se de uma lesão de carácter maligno (figura 16B)). O estômago, as ansas intestinais, as glândulas adrenais e rins não apresentaram alterações dignas de registo.

O baço revelou aumento de tamanho, evidenciando uma lesão em massa de grandes dimensões (11 cm de diâmetro), intraparenquimatosa, localizada no corpo do baço. A massa apresentava limites bem definidos e parênquima heterogéneo, com captação de contraste heterogénea (figura 17). Suspeitou-se de imagem compatível com lesão neoplásica esplénica (exemplo: hemangiossarcoma) ou hematoma esplénico. Não se verificaram outras lesões nodulares no restante parênquima. Adjacente à lesão descrita verificou-se reatividade mesentérica moderada, associada à presença de líquido livre abdominal trivial (figura 17).

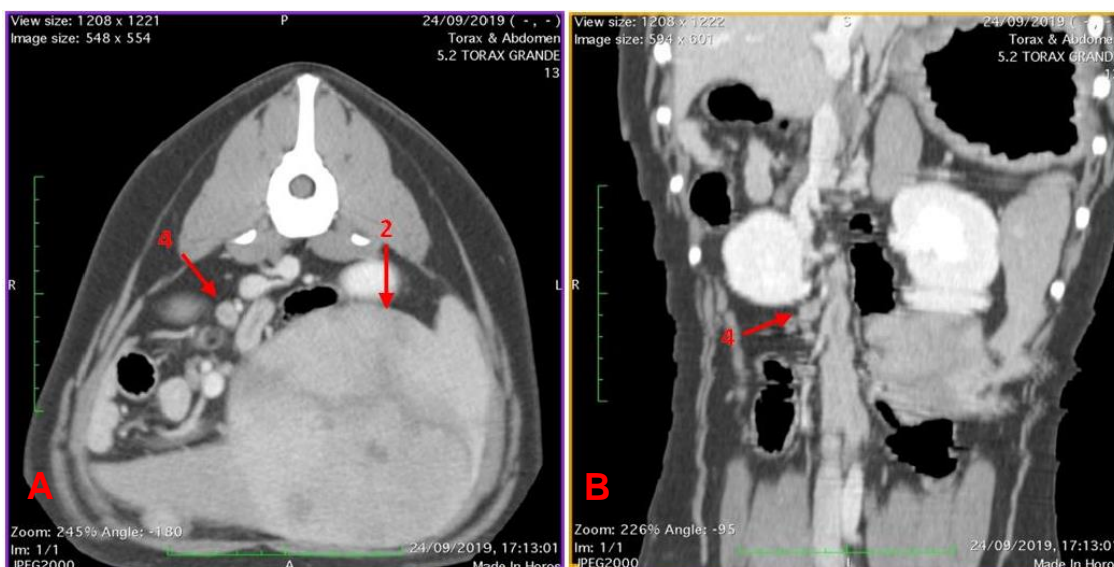
Os linfonodos apresentavam-se, na sua maioria, normodimensionados, tendo-se verificado, no entanto, a presença de pelo menos um linfonodo mesentérico, localizado medialmente ao pólo caudal do rim direito, de tamanho ligeiramente aumentado e com captação de contraste heterogênea, podendo corresponder a linfadenopatia reativa ou metastização neoplásica (figura 18).



**Figura 16- Imagem de TC de corte transversal da cavidade abdominal pós-contraste, com observação do fígado (A) e do estômago (B).** Presença de uma estrutura nodular (1), localizada no corpo do pâncreas, sem captação de contraste e sem efeito de massa significativo, compatível com lesão quística benigna.



**Figura 17- Imagem de TC de corte transversal da cavidade abdominal pós-contraste.** Observação de uma massa esplênica de limites bem definidos e com captação de contraste heterogênea (2). Presença de reatividade mesentérica moderada adjacente à lesão descrita (3).



**Figura 18- Imagem de TC de corte transversal (A) e corte coronal (B) da cavidade abdominal pós-contraste.** Observação de uma massa esplênica de grandes dimensões (2) e de um linfonodo mesentérico (4), localizado medialmente ao pólo caudal do rim direito, de tamanho ligeiramente aumentado e com captação de contraste heterogênea, podendo corresponder a linfadenopatia reativa ou metastização neoplásica.

#### 4.3.4. Tratamento

##### 4.3.4.1. Histiocitoma Cutâneo

Nos cães 4, 6 e 7 não se realizou cirurgia nem tratamento médico, tendo-se observado completa regressão do histiocitoma cutâneo nos cães 4 e 7 após oito e sete semanas, respetivamente. No cão 4, visto que o relatório citológico revelou histiocitoma cutâneo com processo séptico associado, foi administrada uma combinação de amoxicilina e ácido clavulânico durante 10 dias BID. Relativamente ao cão 6, devido ao período de estudo ter terminado e ao facto de se ter perdido o contacto com os seus tutores, desconhece-se a evolução do histiocitoma cutâneo.

No cão 5, realizou-se nodulectomia com posterior envio do nódulo para histopatologia, tendo sido emitido diagnóstico definitivo de histiocitoma cutâneo. A decisão de se realizar cirurgia baseou-se no facto de o nódulo ter ulcerado e de se localizar numa zona de fácil remoção e cicatrização. Até à data, não se observou recidiva do histiocitoma nesse local ou noutras localizações anatómicas.

##### 4.3.4.2. Sarcoma Histiocítico

Quanto ao cão 1, perante o diagnóstico citológico inicial de mastocitoma, aplicou-se um protocolo de quimioterapia de lomustina e vinblastina ( $2.0 \text{ mg/m}^2$ ), tipicamente utilizado para estes casos (Dobson e Scase 2007). Cada sessão tinha um intervalo de quinze dias e eram sempre efetuados o hemograma e o painel bioquímico de controlo, previamente à administração do citotóxico e outros oito dias após a sessão (tabela 6). Após



o resultado do teste imunohistoquímico de SH, optou-se por manter o mesmo protocolo de quimioterapia. Na primeira sessão de vinblastina o hemograma mostrou sinais de leucocitose com neutrofilia, linfocitose e monocitose e, oito dias após a sessão, o resultado do hemograma apresentava leucopénia. Nessa altura recomendou-se fazer antibioterapia com trimetopim e sulfametoxazol. Nas sessões seguintes de vinblastina, o hemograma de controlo não apresentava qualquer alteração. Na quarta sessão de administração de lomustina, as análises sanguíneas de controlo revelaram aumento de FAS e ALT, tendo sido mantida a sessão de quimioterapia. Oito dias depois, a única alteração presente nas análises sanguíneas era aumento da FAS. Quatro meses após iniciar o protocolo de quimioterapia, o cão 1 começou a apresentar aumento da FAS e leucopénia. Na ecografia de controlo observou-se um nódulo no baço e uma massa caudal à bexiga. Ambas as massas apresentaram um crescimento acentuado e acelerado com o tempo, pelo que o tutor, mesmo tendo noção que com interrupção da quimioterapia o crescimento das massas seria mais rápido, optou por não sujeitar mais o cão ao tratamento. Uma semana depois foi feita eutanásia.

No cão 2, apesar do exame histopatológico ser sugestivo de sarcoma histiocítico, não foi possível realizar prova imunohistoquímica que comprovasse a natureza do tumor, por existir contenção de custos. Chegou a fazer pensos diários na lesão do cotovelo com mel e, posteriormente, com pomada de iodopovidona, mas não apresentou melhorias (figura 15). Aconselhou-se a realização de TC ao abdómen e tórax para pesquisa de metástases, e ainda, ao membro afetado para visualizar a extensão da lesão e considerar a sua amputação. Foi ainda ponderada a realização de esplenectomia devido à massa esplénica irregular. Os tutores não consentiram e, perante o prognóstico, optaram pela eutanásia.

No cão 3, após a observação de uma massa esplénica de grandes dimensões na TC, optou-se pela realização de esplenectomia no dia seguinte. Durante a cirurgia não foi detetado o linfonodo reativo observado na TC e a aparência do pâncreas encontrava-se dentro da normalidade. Além da esplenectomia, fez cirurgia para aplicação de sonda de alimentação esofágica. Após o procedimento, o hemograma e bioquímicas de controlo mostraram sinais de leucocitose, hipoalbuminémia e hematócrito baixo. O cão estava desperto, mas prostrado e iniciou-se a alimentação via sonda. Dois dias após cirurgia, o cão 3 encontrava-se bem-disposto e a comer por ele, pelo que se retirou a sonda de alimentação. Os resultados do hemograma normalizaram e o hematócrito e a albumina, apesar de ainda estarem baixos, mantiveram-se estáveis.

Após conhecimento do resultado imunohistoquímico e de não terem sido encontradas metástases na TC, foi proposto aos tutores avançar para protocolo de quimioterapia de lomustina, uma sessão a cada três semanas, dois comprimidos de 20mg



PO. Alertou-se para a necessidade de realizar o controlo analítico previamente às sessões (hemograma, transaminases e bilirrubina) e para os possíveis efeitos secundários da lomustina (hepatotoxicidade e aplasia medular). Além disso, reforçou-se também a importância do controlo regular para identificação de metástases, pelo menos de três em três meses. Porém, os tutores optaram por não fazer quimioterapia e, em vez disso, realizar apenas controlos analíticos e TC. Sete semanas após a cirurgia, o cão 3 foi trazido à consulta com anorexia, vômitos e prostração. Ao exame físico as mucosas estavam pálidas, tinha hipertermia (39,6°C) e o abdómen apresentava uma ligeira dilatação, principalmente ao nível cranial. O hemograma mostrou sinais de anemia grave (hematócrito 16%) e trombocitopenia. Na ecografia evidenciou-se a presença de metástases hepáticas e efusão abdominal. Foi feita uma colheita do líquido abdominal e na citologia observou-se exsudado asséptico com células neoplásicas. Os tutores, não querendo prolongar mais a situação, optaram pela eutanásia.

**Tabela 6- Protocolo de quimioterapia lomustina-vinblastina realizado no cão**

Sessão	Citotóxico	Resultado das Análises Clínicas
1ª	Lomustina	Hemograma normal Bioquímicas normais
	Vinblastina (2.0mg/m <sup>2</sup> )	Hemograma: leucocitose linfocitose e monocitose Bioquímicas normais com neutrofilia,
2ª	Lomustina	Hemograma normal Bioquímicas normais
	Vinblastina (2.0mg/m <sup>2</sup> )	Hemograma normal Bioquímicas normais
3ª	Lomustina	Hemograma normal Bioquímicas normais
	Vinblastina (2.0mg/m <sup>2</sup> )	Hemograma normal Bioquímicas normais
4ª	Lomustina	Hemograma normal Bioquímicas: aumento FAS e ALT
	Vinblastina (2.0mg/m <sup>2</sup> )	Hemograma: leucopenia Bioquímicas: aumento FAS

Intervalo de quinze dias entre cada sessão de lomustina e vinblastina, com realização de hemograma e painel bioquímico de controlo antes de iniciar a administração do medicamento citotóxico. Oito dias após administração do citotóxico, era realizado um novo hemograma e painel bioquímico de controlo.

### 4.3.5. Prognóstico

#### 4.3.5.1. Histiocitoma Cutâneo

O prognóstico nos cães com histiocitoma cutâneo é bastante favorável, tendo-se observado regressão das lesões solitárias na maioria dos cães da amostra. Neste estudo, a regressão espontânea ocorreu em média 7,5 semanas após aparecimento do nódulo. No caso do cão 5, como ocorreu ulceração do histiocitoma, foi recomendada a excisão cirúrgica do nódulo, não se tendo observado recidiva da doença durante o período de estudo.

#### 4.3.5.2. Sarcoma Histiocítico

Perante o quadro clínico e imagiológico dos três animais afetados com SH, este foi classificado como disseminado ou hemofagocítico. O cão 1 apresentava envolvimento esplênico e cutâneo, assim como o cão 2, indicativo de SHD. O cão 3 exibiu envolvimento esplênico e mais tarde revelou a presença de metástases hepáticas. A tabela 7 resume os tratamentos e os parâmetros de prognóstico negativo registados nos cães com sarcoma histiocítico.

O cão 3 registou todos os parâmetros negativos que nos foi possível avaliar e, consequentemente, apresentou o TMS mais curto.

Dos três animais estudados com SH nenhum recuperou ou apresentou melhorias, sendo que todos eles foram eutanasiados.

**Tabela 7- Tratamentos e parâmetros de prognóstico negativo registados nos cães da amostra com sarcoma histiocítico.**

Cão	Tratamento	Parâmetros de prognóstico negativo				TMS (dias)
		Anemia	Trombocitopénia	Hipoalbuminémia	Envolvimento esplênico	
1	Lomustina + Vinblastina				x	145
2	Sem tratamento	x		x	x	89
3	Esplenectomia	x	x	x	x	52

Tempo médio de sobrevivência (TMS) em dias de cada caso, desde o dia da consulta que deu origem ao diagnóstico, até ao dia da sua eutanásia.

## **4.4. Discussão**

### **4.4.1. História Clínica**

A idade é um dos fatores de predisposição no aparecimento das doenças histiocíticas, sendo que, animais mais jovens apresentam com maior frequência histiocitoma cutâneo, ao contrário do que acontece no sarcoma histiocítico. A média de idades dos casos de histiocitoma cutâneo foi de 3,75 anos e segundo a bibliografia atual, é mais comum surgir em cães jovens até aos 3 anos de idade, podendo surgir em qualquer idade (Miller et al. 2013; Meuten 2017). Nos casos de sarcoma histiocítico da amostra, a média de idades foi de 7,6 anos. Na bibliografia apresentada, a idade média de início da doença é aos 6,5 anos (Abadie et al. 2009).

Dos animais estudados, três eram machos e quatro eram fêmeas, não se tendo verificado prevalência relevante de género para o aparecimento de doenças histiocíticas caninas.

As raças que se encontram indicadas na bibliografia como predispostas estiveram presentes neste estudo. No histiocitoma cutâneo o Boxer, Pitbull, Buldog Francês e Cocker Spaniel, foram as raças registadas na amostra. No sarcoma histiocítico, as raças afetadas foram o Rottweiler ( $n=2$ ; 66,7%) e o Labrador Retriever ( $n=1$ ; 33,3%), que são raças que têm vindo a ser relatadas (Abadie et al. 2009; Vail et al. 2020).

O único sinal clínico presente nos cães afetados com histiocitoma cutâneo foi a presença de uma massa ou nódulo, não se tendo verificado nenhuma outra alteração ao exame físico. Os sinais clínicos do sarcoma histiocítico são inespecíficos, sendo que o estudo demonstrou maior prevalência de manifestações de anorexia e desconforto abdominal, na amostra populacional em causa.

### **4.4.2. Diagnóstico**

A nível de diagnóstico, a técnica de PAAF mostrou ter mais eficácia na obtenção de um diagnóstico de histiocitoma cutâneo, do que a técnica de colheita por aposição. Esta técnica permite apenas a recolha de material celular superficial, pelo que poderá haver um subdiagnóstico, por ausência de células das camadas mais profundas e por contaminação com células inflamatórias considerando a frequente ulceração superficial.

Nos animais com sinais clínicos graves, as análises citológicas e histopatológicas não foram totalmente conclusivas, tendo sido necessário recorrer à marcação imunohistoquímica para obter o diagnóstico definitivo da natureza do tumor. No caso do cão 2 não foi realizada por questões económicas. Os marcadores imunohistoquímicos utilizados pelo laboratório de patologia veterinária da Universidade do Porto, foram os

anticorpos anti-vimentina e anti-CD18. Estes marcadores permitem fazer a marcação de células de origem mesenquimatosa (sarcomas) e de origem histiocítica. O Laboratório Inno, para diagnóstico do fenótipo do sarcoma identificado por histopatologia, recorreu ao anticorpo anti-Iba-1 que medeia os sinais de cálcio nas linhas celulares monocíticas e histiocíticas, podendo ser usado em cães (Ide et al. 2011). De acordo com Fernandez et al. (2005) e Ide et al. (2011), os marcadores utilizados pelos diferentes laboratórios têm eficácia no diagnóstico das doenças histiocíticas caninas.

Nos cães com sarcoma histiocítico as principais características observadas ao microscópico foram a presença de células neoplásicas de grandes dimensões e núcleos redondos, ovais a reniformes. Evidenciou-se ainda moderada atividade mitótica e marcada anisocariose e anisocitose, nos três casos. As características observadas estão de acordo com a bibliografia mais recente sobre sarcoma histiocítico canino (Vail et al. 2020).

Segundo Affolter e Moore (2002), o SHL desenvolve-se a partir de um único local. É localmente invasivo e frequentemente metastiza para os linfonodos que drenam a região (Affolter e Moore 2002). A maioria destas neoplasias tem origem no tecido subcutâneo (Affolter e Moore 2002). Contudo, já foram observadas outras localizações primárias (Affolter e Moore 2002). No caso do SHD, este caracteriza-se por ser uma doença multissistémica agressiva, com a presença de múltiplas massas tumorais em vários órgãos, em que, por norma, os primeiros órgãos afetados são o baço, fígado e medula óssea (Affolter e Moore 2002).

Segundo o exame físico e imagiológico podemos concluir que, no caso do cão 3, o envolvimento esplénico inicial, a presença de metástases hepáticas e o quadro clínico visivelmente agressivo, foi indicativo de SHD ou SHH. Por outro lado, de acordo com os registos clínicos e imagiológicos do cão 1 e do cão 2 podemos caracterizar o SH como sendo disseminado. Para ter a certeza do tipo de SH para cada caso seria necessário recorrer a mais testes. Assim, o ideal seria a realização de TC abdominal e torácica no cão 1 e 2, para descartar envolvimento de outros órgãos. Seria ainda interessante realizar um padrão de marcação de  $\beta$ 2-integrina no caso do cão 3. Dessa forma, consoante a marcação positiva de marcadores de  $\beta$ 2-integrinas, CD11c ou CD11d, poderíamos classificar o sarcoma histiocítico em SHD ou SHH, respetivamente.

#### **4.4.3. Tratamento e Prognóstico**

Sabe-se que a forma disseminada do sarcoma histiocítico apresenta um comportamento biológico mais agressivo, pelo que cães afetados com SHD, à partida, têm pior prognóstico que aqueles que são afetados por SHL (Dervisis et al. 2017). A bibliografia estudada afirma que cães diagnosticados com SHD têm um TMS de 85 dias quando

submetidos a tratamentos paliativos, enquanto que cães com SHL têm um TMS de 406 dias (Dervisis et al. 2017). No caso de animais com SHH, os tempos de sobrevivência são muito curtos, variando de um a dois meses, independentemente da terapêutica (Daleck e Nardi 2016; Vail et al. 2020). Dentro dos valores de TMS referidos no SHD e SHH, o cão 1 apresentou um TMS ligeiramente superior (145 dias) e os cães 2 e 3 apresentaram TMS mais curtos e dentro dos intervalos apresentados (um a dois meses) (Daleck e Nardi 2016; Dervisis et al. 2017).

Segundo um estudo, cães com SHH apresentam características clinicopatológicas únicas (Ettinger et al. 2017). Na sua maioria estão presentes sinais clínicos característicos como anemia regenerativa (94%), trombocitopenia (88%), hipoalbuminemia (94%) e hipocolesterolemia (69%). Algumas destas alterações foram observadas nos casos da amostra, em especial a presença de anemia e hipoalbuminemia nos cães 2 e 3, podendo assim estarmos perante SHH nestes dois casos.

Vários estudos apontam para a existência de alguns parâmetros que nos podem dar indicações do prognóstico do SH, entre os quais, dos que nos foi possível observar, a anemia, trombocitopenia, hipoalbuminemia e envolvimento esplênico (tabela 7) (Skorupski et al. 2007; Abadie et al. 2009). Alguns estudos demonstram que cães com SH que apresentam estes parâmetros têm menor probabilidade de responder ao tratamento (Ettinger et al. 2017). Todos os animais tinham pelo menos um parâmetro negativo a registar, estando presente o envolvimento esplênico em todos os animais. Por norma, um SH com envolvimento esplênico primário ou secundário está sempre associado a um prognóstico reservado (Ettinger et al. 2017).

Na amostra em estudo, o cão 3 apresentou todos os indicadores e registou o TMS mais curto, comprovando que a presença de alguns parâmetros clínicos está associada a pior prognóstico. Segundo Ettinger et al. (2017), cães com SH acabam por morrer da doença, mesmo após a realização de esplenectomia. O cão 3, sete semanas após a esplenectomia, começou a apresentar alterações clínicas bastante significativas e um prognóstico cada vez mais reservado, tendo sido eutanasiado.

O cão 1 foi o único canídeo que chegou a fazer protocolo de quimioterapia para tratamento do SH. Possivelmente, o facto de ter iniciado a terapêutica com lomustina e vinblastina pode ser o motivo para não apresentar alguns dos parâmetros de prognóstico negativo, e ainda, explicar o TMS mais longo quando comparado com os restantes casos da amostra. Nos controlos analíticos feitos durante o tratamento observou-se aumento da FAS e ALT, e ainda, leucopenia. Estas alterações podem ser resultado da hepatotoxicidade e aplasia medular provocadas pela lomustina, ou consequência da agressividade tumoral. De acordo com a bibliografia, pode ocorrer

aumento das enzimas hepáticas após uma a três doses de lomustina quando administrada com três a quatro semanas de intervalo (Ettinger et al. 2017). Neste caso, cada administração de lomustina tinha um intervalo de quatro semanas e observou-se aumento das enzimas hepáticas na quarta administração.

Por outro lado, o cão 2 não realizou nenhum tipo de tratamento e a doença evoluiu rapidamente, apresentando um prognóstico muito reservado com sinais de anemia e hipoalbuminémia, tendo-se optado pela eutanásia ao fim de 89 dias após os primeiros sintomas.

De acordo com Skorupski et al. (2007), cães com anemia ou trombocitopenia têm um TMS inferior a 30 dias e cães com envolvimento esplênico têm um TMS de 58 dias. Na população da amostra, o cão 3 apresentava envolvimento esplênico, anemia, trombocitopenia e hipoalbuminémia e o TMS foi de 52 dias, encontrando-se dentro do intervalo de tempo apresentado por Skorupski et al. (2007). Contudo, os cães 1 e 2 apresentaram envolvimento esplênico, mas o TMS foi superior, tendo sido de 145 e 89 dias, respetivamente. Ainda assim, a altura em que o tumor foi diagnosticado, a realização de tratamento e a decisão de eutanasiar os animais, são fatores que podem influenciar o TMS, pelo que não é possível comprovar com certeza os valores referidos na bibliografia.

Nos casos de histiocitoma cutâneo da população em estudo, todos os animais apresentaram bom prognóstico, com regressão dos nódulos ao fim de 7,5 semanas, em média. Comparativamente à bibliografia, o tempo de regressão espontânea é de um a dois meses desde a sua apresentação (Miller et al. 2013), encontrando-se assim o período de regressão dos histiocitomas da população da amostra, dentro desse intervalo.

#### **4.5. Limitações**

A amostra reduzida dos animais foi uma das principais limitações do presente estudo, influenciando a reduzida variabilidade dos constituintes da amostra e limitando as conclusões obtidas.

Não foi possível seguir todos os casos presencialmente pelo que, em algumas situações, só tivemos acesso a dados que haviam sido registados, o que torna alguma da informação obtida dependente da avaliação de médicos veterinários diferentes. O período de estudo reduzido também não permitiu acompanhar até ao fim todos os casos, impedindo dessa forma saber como ocorreu a evolução da doença.

Em alguns casos, a não realização de testes imunohistoquímicos impossibilitou a confirmação definitiva do diagnóstico, o que pode ter proporcionado a inclusão na

amostra de falsos positivos, ou que outros casos não considerados fossem realmente situações de doenças histiocíticas.

Os tipos de SH não foram classificados de forma exaustiva, devendo para isso ter-se feito mais exames complementares que auxiliassem na sua caracterização. Para além disso, as limitações impostas pelos tutores em relação ao tratamento e o desfecho clínico de alguns casos, impediu um acompanhamento prolongado e avaliação da resposta da doença ao tratamento escolhido.

#### **4.6. Conclusão**

No presente estudo, obteve-se uma boa correlação dos dados da amostra com a bibliografia, o que significa que, atualmente, existe uma boa base de dados bibliográficos das doenças histiocíticas caninas para a sua caracterização e que a amostra, mesmo reduzida, foi representativa para alguns parâmetros.

Desta forma, relativamente ao histiocitoma cutâneo, foi possível confirmar neste estudo: i) animais mais jovens têm uma maior predisposição para a doença; ii) os locais mais frequentemente afetados são a cabeça, pavilhão auricular e extremidades; iii) o prognóstico destes animais é muito favorável, ocorrendo regressão dos histiocitomas em média ao fim de 7,5 semanas. Por outro lado, no SH, concluiu-se: i) animais mais velhos têm uma maior predisposição para a doença; ii) Labradores e Rottweilers são raças com alta prevalência para o aparecimento da doença; iii) o prognóstico nestes casos é muito desfavorável.

Considerando os sinais de prognóstico negativo que nos foi possível observar e a evolução clínica dos três casos de SH, podemos concluir que estes parâmetros permitem fazer uma boa correlação entre a presença dos sinais clínicos e o TMS dos pacientes. Os casos em que estejam presentes sinais como anemia, trombocitopénia, hipoalbuminémia e envolvimento esplénico, dificilmente conseguirão responder ao tratamento e, conseqüentemente, irão apresentar TMS mais curto.

Deverão ser feitos estudos posteriores, com amostras populacionais alargadas, de modo a avaliar o comportamento evolutivo das doenças histiocíticas e o melhor tratamento a aplicar a cada caso.

## Bibliografia

- Abadie, Jérôme, Benoit Hédan, Edouard Cadieu, Clotilde De Brito, Patrick Devauchelle, Catherine Bourgain, Heidi G. Parker, et al. 2009. "Epidemiology, Pathology, and Genetics of Histiocytic Sarcoma in the Bernese Mountain Dog Breed." *Journal of Heredity* 100 (Supplement 1): S19–27. <https://doi.org/10.1093/jhered/esp039>.
- Abla, Oussama, Sylvie Fraitag, Annacarin Horne, Julien Haroche, Jean Donadieu, Luis Requena-caballero, Michael B Jordan, et al. 2016. "Review Article Revised Classification of Histiocytoses and Neoplasms of the Macrophage-Dendritic Cell Lineages." *Blood* 127 (22): 2672–82. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-690636>. Presented.
- Affolter, V. K. 2004. "Histiocytic Proliferative Diseases in Dogs and Cats." In *29th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association*. Rhodes, Greece. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?meta=Generic&pld=11181&id=3852149>.
- Affolter, V. K., e P. F. Moore. 2000. "Canine Cutaneous and Systemic Histiocytosis: Reactive Histiocytosis of Dermal Dendritic Cells." *Am J Dermatopathology* 22 (1): 40–48. [https://journals.lww.com/amjdermatopathology/Abstract/2000/02000/Canine\\_Cutaneous\\_and\\_Systemic\\_Histiocytosis\\_9.aspx](https://journals.lww.com/amjdermatopathology/Abstract/2000/02000/Canine_Cutaneous_and_Systemic_Histiocytosis_9.aspx).
- . 2002. "Localized and Disseminated Histiocytic Sarcoma of Dendritic Cell Origin in Dogs." *Veterinary Pathology* 39 (1): 74–83. <https://doi.org/10.1354/vp.39-1-74>.
- Conti, Bruno José, Karina Basso Santiago, e José Mauricio Sforcin. 2014. "Dendritic Cells : A Short Review." *Biosaúde* 16: 28–33.
- Coomer, Alastair R., e Julius M. Liptak. 2008. "Canine Histiocytic Diseases." *Compendium: Continuing Education For Veterinarians* 30 (4): 202–17.
- Craig, L. E., M. E. Julian, e J. D. Ferracone. 2002. "The Diagnosis and Prognosis of Synovial Tumors in Dogs: 35 Cases." *Veterinary Pathology* 39 (1): 66–73. <https://doi.org/10.1354/vp.39-1-66>.
- Daleck, Carlos Roberto, e Andriago Barboza Nardi. 2016. *Oncologia Em Cães e Gatos*. 2.edição. Rio de Janeiro: ROCA.
- Dervisis, N. G., M. Kiupel, Q. Qin, e L. Cesario. 2017. "Clinical Prognostic Factors in Canine Histiocytic Sarcoma." *Veterinary and Comparative Oncology* 15 (4): 1171–80. <https://doi.org/10.1111/vco.12252>.
- Dobson, J. M., e T. J. Scase. 2007. "Advances in the Diagnosis and Management of Cutaneous Mast Cell Tumours in Dogs." *Journal of Small Animal Practice* 48 (8): 424–31. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00366.x>.
- Ettinger, Stephen J, Edward C Feldman, e Etienne Côté. 2017. "Text Book of Veterinary International Medicine." *Elsevier*.
- Fernandez, N. J., K. H. West, M. L. Jackson, e B. A. Kidney. 2005. "Immunohistochemical and Histochemical Stains for Differentiating Canine Cutaneous Round Cell Tumors." *Veterinary Pathology* 42 (4): 437–45. <https://doi.org/10.1354/vp.42-4-437>.
- Fontaine, Jacques, C. Bovens, S. Bettenay, e R. S. Mueller. 2009. "Canine Cutaneous Epitheliotropic T-Cell Lymphoma: A Review." *Veterinary and Comparative Oncology* 7 (1): 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2008.00176.x>.
- Friedrichs, K R, C Thomas, M Plier, G A Andrews, P S Chavey, e K M Young. 2010. "Evaluation of Serum Ferritin as a Tumor Marker for Canine Histiocytic Sarcoma," 904–11.
- Henry, Carolyn J., e Mary Lynn Higginbotham. 2010. *Cancer Management in Small Animal Practice*. Saunders.



- Ide, Tetsuya, Kazuyuki Uchida, Yumiko Kagawa, Kazuhiko Suzuki, e Hiroyuki Nakayama. 2011. "Pathological and Immunohistochemical Features of Subdural Histiocytic Sarcomas in 15 Dogs." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23 (1): 127–32. <https://doi.org/10.1177/104063871102300123>.
- Jakob, Thilo, e Mark C. Udey. 1998. "Regulation of E-Cadherin-Mediated Adhesion in Langerhans Cell-like Dendritic Cells by Inflammatory Mediators That Mobilize Langerhans Cells in Vivo." *Journal of Immunology* 160 (8): 4067–73.
- Kaim, Ute, Andreas Moritz, Klaus Failing, e Wolfgang Baumgärtner. 2006. "The Regression of a Canine Langerhans Cell Tumour Is Associated with Increased Expression of IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and INOS mRNA." *Immunology* 118 (4): 472–82. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02394.x>.
- Kelley, Jim L., Tammy R. Ozment, Chuanfu Li, John B. Schweitzer, e David L. Williams. 2014. "Scavenger Receptor-A (CD204): A Two-Edged Sword in Health and Disease." *Critical Reviews in Immunology* 34 (3): 241–61. <https://doi.org/10.1615/CritRevImmunol.2014010267>.
- Kuijk, L. Van, K. Van Ginkel, J. P. De Vos, M. J. Brearley, J. Butinar, I. Gielen, E. Van Garderen, K. Chiers, e P. S. Verhoeven. 2013. "Peri-Articular Histiocytic Sarcoma and Previous Joint Disease in Bernese Mountain Dogs." *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27 (2): 293–99. <https://doi.org/10.1111/jvim.12059>.
- Manor, E. K., L. E. Craig, X. Sun, e C. M. Cannon. 2018. "Prior Joint Disease Is Associated with Increased Risk of Periarticular Histiocytic Sarcoma in Dogs." *Veterinary and Comparative Oncology* 16 (1): E83–88. <https://doi.org/10.1111/vco.12338>.
- Mariani, C. L., M. K. Jennings, N. J. Olby, L. B. Borst, J. C. Brown, I. D. Robertson, G. S. Seiler, e E. Mackillop. 2015. "Histiocytic Sarcoma with Central Nervous System Involvement in Dogs: 19 Cases (2006-2012)." *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29 (2): 607–13. <https://doi.org/10.1111/jvim.12554>.
- Meuten, Donald J., ed. 2017. *Tumors in Domestic Animals*. 5ª edição. Iowa: WILEY Blackwell.
- Miller, William H., Craig E. Griffin, e Karen L. Campbell. 2013. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. 7ª Edição. Elsevier.
- Moore, P. F. 1984. "Systemic Histiocytosis of Bernese Mountain Dogs." *Veterinary Pathology* 21 (6): 554–63. <https://doi.org/10.1177/030098588402100602>.
- . 2014. "A Review of Histiocytic Diseases of Dogs and Cats." *Veterinary Pathology* 51 (1): 167–84. <https://doi.org/10.1177/0300985813510413>.
- Moore, P. F., V. K. Affolter, e W. Vernau. 2006. "Canine Hemophagocytic Histiocytic Sarcoma: A Proliferative Disorder of CD11d+ Macrophages." *Veterinary Pathology* 43 (5): 632–45. <https://doi.org/10.1354/vp.43-5-632>.
- Nagata, Masahiko et al. 2000. "Progressive Langerhans' Cell Histiocytosis in a Puppy." *Veterinary Dermatology* 11(4): 241–46.
- Rosin, A., P. Moore, e R. Dubielzig. 1986. "Malignant Histiocytosis in Bernese Mountain Dogs." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 188 (9): 1041–45.
- Schittenhelm, Leonie, Catharien M. Hilken, e Vicky L. Morrison. 2017. "B2 Integrins As Regulators of Dendritic Cell, Monocyte, and Macrophage Function." *Frontiers in Immunology* 8 (DEC). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01866>.
- Silva, Danilo Rezende e, Mariana Batista Rodrigues Faleiro, Veridiana Maria, and Brianezi Dignani de Moura. 2015. "Tumores de Células Redondas Em Cães: Aspectos Gerais e Marcadores Imunohistoquímicos." 38(3): 105–19
- Skorupski, K. A., C. O. Rodriguez, E. L. Krick, C. A. Clifford, R. Ward, e M. S. Kent. 2009. "Long-Term Survival in Dogs with Localized Histiocytic Sarcoma Treated with CCNU as an Adjuvant to Local Therapy." *Veterinary and Comparative Oncology* 7 (2): 139–44. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00186.x>.
- Skorupski, Katherine A., Craig A. Clifford, Melissa C. Paoloni, Ana Lara-Garcia, Lisa Barber, Michael S. Kent, Amy K. LeBlanc, et al. 2007. "CCNU for the Treatment of Dogs with Histiocytic Sarcoma." *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21 (1): 121–26. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[121:CFTTOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[121:CFTTOD]2.0.CO;2).

- Summerfield, Artur, Gael Auray, e Meret Ricklin. 2015. "Comparative Dendritic Cell Biology of Veterinary Mammals." *Annual Review of Animal Biosciences* 3 (1): 533–57. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-111009>.
- Thomas, Ranjeny, e Peter E. Lipsky. 1996. "Dendritic Cells: Origin and Differentiation." *Stem Cells* 14 (2): 196–206. <https://doi.org/10.1002/stem.140196>.
- Toyoda, Izumi, William Vernau, Beverly K. Sturges, Karen M. Vernau, John Rossmeisl, Kurt Zimmerman, Chelsea M. Crowe, et al. 2020. "Clinicopathological Characteristics of Histiocytic Sarcoma Affecting the Central Nervous System in Dogs." *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34 (2): 828–37. <https://doi.org/10.1111/jvim.15673>.
- UCDAVIS Veterinary Medicine. n.d. "Canine Reactive Histiocytosis." Histiocytosis. Accessed April 28, 2020a. <https://www.histiocytosis.ucdavis.edu/histiocytosis/canine-reactive-histiocytoses>.
- . n.d. "Histiocytic Lineages." Accessed April 2, 2020b. <https://www.histiocytosis.ucdavis.edu/histiocytosis/histiocytic-lineages>.
- Vail, David M., Douglas H. Thamm, e Julius M. Liptak. 2020. *Withrow & MacEwens's Small Animal Clinical Oncology*. 6ª edição. Elsevier.
- Wobeser, Gary. 2009. "Canine Histiocytic Neoplasia: An Overview." *Canadian Veterinary Journal* 50 (11): 1169–76. <https://doi.org/10.1515/semi.1969.1.3.33>

